ongi. rec'd 26 Mar 1940
C.S.A.7

Ano 1939
Tomo 34
Fasciculo 4

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

INDICE

(Novembro — Dezembro 1939)

ARAGÃO, HENRIQUE DE BEAUREPAIRE, PENIDO, JOÃO CARLOS N., SANTOS, MARIO FERREIRA DOS e OLIVEIRA, LEJEUNE P. H. DE: — Relatorio sobre a situação da Lagôa Rodrigo de Freitas sob o ponto de vista biologico 475

GONÇALVES, N. BOTAFOGO, SOARES, J. VEIGA e BOTAFOGO FILHO, CANDIDO — Atividade plastica especifica dos amino acidos. I - Amino acidos da cortex suprarenal 465

LUTZ, ADOLPHO — A Transmissão da lepra pelos mosquitos e a sua profilaxia. 475
— The transmission of Leprosy by Mosquitos and its Prophylaxis... 485

ARAGÃO, HENRIQUE DE BEAUREPAIRE—Observações a respeito de um foco limitado de Febre Amarela Silvestre no Estado de São Paulo 495

OLIVEIRA, LEJEUNE P. H. DE — Alguns fatores que limitam o habitat de varias especies de caranguejos do genero *Uca* Leach. (Decapoda: Ocypodidae) 519
— Observations on the habitat of the genus *Uca* Fiddler-Crabs 525

PACHECO, GENESIO, PÉRES, JOSÉ NORONHA e MATTOSO, ITALO VIVIANI — Investigações sobre a capacidade sulfurigena das bacterias. 527

ARAGÃO, HENRIQUE DE BEAUREPAIRE — Mosquitos e virus da febre amarela. 547
— Mosquitoes and yellow fever virus 565

LENT, HERMAN — Sobre o hematofagismo da *Clerada apicicornis* e outros artropodos; sua importancia na transmissão da doença de Chagas 583

NEIVA, ARTHUR, PINTO, CESAR e LENT, HERMAN — Notas sobre triatomideos do Rio Grande do Sul e descrição de uma nova especie 607

MOUSSATCHÉ, H. e VIANNA DIAS, M. — Ação da nicotina sobre os movimentos respiratorios do macaco (M. rhesus). Ausencia da grande apnéa. 611
— Action de la nicotine sur les mouvements respiratoires chez le singe (M. rhesus). Absence de la grand apnée nicotinique 615

DIAS, EMMANUEL e ROMAÑA, CECILIO — Algumas investigações sobre o *Schizotrypanum* de Quirópteros 619

LENT, HERMAN e PIFANO C., FÉLIX — Dados experimentais sobre a infestação do *Eutriatoma nigromaculata* (Stal, 1872) pelo *Schizotrypanum cruzi* (Chagas, 1909), e sua redescrição 627

As **MEMORIAS,** orgão oficial do Instituto Oswaldo Cruz, são reservadas exclusivamente á publicação de trabalhos originais nele realizados e aparecerão, em fasciculos, em Março, Junho, Setembro e Dezembro.

Toda a correspondencia deverá ser dirigida á:

REDAÇÃO DAS MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
CAIXA POSTAL 926
RIO DE JANEIRO—BRASIL

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 34 Ano—1939 Fasciculo 4

Relatorio sobre a situação da Lagôa Rodrigo de Freitas sob o ponto de vista biologico *

pelos

Drs. Henrique de Beaurepaire Aragão,
João Carlos N. Penido, Mario Ferreira dos Santos e
Lejeune P. H. de Oliveira

(Com 8 estampas)

A lagôa Rodrigo de Freitas tão conhecida de todos como um dos pontos mais pitorescos do Rio, vem sendo invadida ha algum tempo por plantas aquaticas cujo grande desenvolvimento dificulta a navegação, a natação e a pesca.

Tal estado de coisas tem provocado reclamações dos interessados e pedidos de providencias ás autoridades municipais competentes.

Como o fenomeno observado fosse de ordem biologica e ligado a condições que se estabeleceram na lagôa em época relativamente recente, foi pedida a opinião da Secção de Hidrobiologia do Instituto Oswaldo Cruz, pela diretoria do Club dos Caiçaras e por intermedio do nosso distinto colega Dr. C. Magarinos Torres.

A Secção de Hidrobiologia tomou a si o estudo do problema e após numerosas observações locais e pesquizas de laboratorio, vem apresentar o resultado dos seus trabalhos e sugerir as medidas que julga convenientes para remediar o mal apontado e outras que permitam aproveitar

* Recebido para publicação a 22 de Maio de 1939 e dado á publicidade em Novembro de 1939.

a referida lagôa como centro de estudos teoricos e praticos de picicultura e biologia lacustre.

As condições da lagôa Rodrigo de Freitas são excepcionais para tais estudos, talvez unicas no mundo, dada a sua accessibilidade e ás ótimas obras de engenharia executadas pelos governos municipais que permitem o controle facil e seguro das condições de vida nas suas aguas.

Em setembro de 1938 começamos os nossos trabalhos pela inspeção da lagôa e observação cuidadosa das condições existentes no momento.

Não foi dificil verificar desde logo que as queixas eram de todo procedentes, notando-se em varios pontos da lagôa, um grande desenvolvimento de plantas aquaticas que formam uma trama espessa, submersa em alguns pontos e em outros á superficie. Esta vegetação impede ou dificulta a natação, a navegação a vela e a remos impedindo tambem a pesca e produz exalações desagradaveis pela putrefação dos vegetais mortos. (Est. 3, fig. 4; Est. 4, figs. 5 e 6; Est. 5, figs 7 e 8; Est. 6, figs. 9 e 10; Est. 7, figs. 11 e 12; Est. 8, figs. 13 e 14).

Ao nosso vêr tal situação devia ser determinada pela perturbação do regime de aguas da lagôa. A comunicação com o Oceano estava suprimida e era permitido ás aguas doces de toda a bacia o livre acesso á lagôa pelo mau funcionamento dos canais e barragens a elas destinados. Ainda mais, o serviço de dragagem e retirada dos aluviões fôra suprimido. Todos esses fatos permitiram a grande proliferação de vegetais, causa principal das reclamações acima aludidas.

Para melhor compreensão do assunto vamos expol-o parceladamente nos capitulos a seguir.

A LAGOA RODRIGO DE FREITAS E O SEU REGIME DE AGUAS.

A Lagôa Rodrigo de Freitas se acha situada na cidade do Rio de Janeiro entre os bairros do Jardim Botanico, Leblon e Ipanema e é contornada em grande parte pela Avenida Epitacio Pessôa. De forma poligonal irregular como se vê no esboço (Est. 1), tem a profundidade variando de 1 a 8 metros. As marés e o afluxo de agua doce exercem influencia sobre a altura das aguas. Estas são salobras e o seu grau de salinidade varia com a entrada de aguas doces e salgadas e com a evaporação, verificando nós que ha maior quantidade de cloretos nas proximidades do canal maritimo e menor nos pontos proximos ás embocaduras de rios e galerias.

O fundo é constituido, em certos pontos, por lama trazida pelas enxurradas e detritos vegetais putrefeitos, em outros, por areia e principalmente por conchas de moluscos bivalves. Em muitos logares cujo

fundo é constituido por lama, se desenvolvem vegetais que procuram a superficie em busca de luz e de ar, especialmente Characeas e Potamogenaceas.

Ao iniciarmos nossas observações a salinidade das aguas era muito baixa; variava de 5,6 ‰ á 3,8 ‰. Tal acontecia por estar fechada a comporta do canal maritimo ha muito tempo e estar aberta a comporta do rio Macaco, permitindo o livre afluxo de agua doce dos rios e das chuvas que tinham sido abundantes, ao mesmo tempo que era vedada a entrada da agua do mar.

Ha muito se observou que a entrada brusca de aguas doces ou salgadas na lagôa perturbava a vida dos sêres nela existentes pela variação da concentração salina da qual resultavam as grandes mortandades de peixes periodicamente observadas. Para corrigir tais inconvenientes e manter o nivel dagua e o equilibrio biologico, muito judiciosamente foram construidos um pequeno canal (Est. 3, fig. 3) munido de uma comporta ligando-a ao mar e outro muito mais extenso destinado a coletar e dirigir diretamente ao Oceano as aguas do rio Macaco e as que vertem das encostas do Corcovado, Jardim Botanico, Marquês de São Vicente (Est. 1 e Est. 2, fig. 2), etc. Esse longo canal começa quasi em frente á Chacara da Cabeça, atravessa os terrenos do Jockey Club e segue pelo Leblon para desembocar no Oceano, proximo ao inicio da da Avenida Niemeyer. Apresenta ele duas comportas; uma proxima á sua boca e outra na ponte das Taboas (Est. 2, fig. 1), as quais têm por fim regularisar o regime da entrada de agua doce na lagôa. Normalmente este canal deve desempenhar a função de impedir a chegada á lagôa das aguas do rio Macaco poluidas por detritos de instalações industriais. Os esquemas mostram a situação acima descrita e as fotografias nos dão ideia do seu aspéto atual e das suas comportas.

Ao iniciarmos os nossos trabalhos a situação da lagôa era resumidamente a seguinte. O canal do mar fechado ha muitos mêses por causa das obras de alargamento da ponte entre Ipanema e Leblon impedindo a entrada da agua do mar e de seres marinhos que procuram periodicamente a lagôa para se desenvolverem e multiplicarem; o canal do Jardim Botanico ao Leblon entupido de areia, lama e plantas trazidas pelas enxurradas com a comporta da Ponte das Taboas aberta e dando livre entrada ás aguas poluidas e toxicas do rio Macaco.

Não ha infelizmente nenhum serviço regular de limpeza dos canais nem de conservação das comportas, o que tão util e facil seria.

SITUAÇÃO ATUAL DA LAGOA.

Como rapidamente vimos, a desorganização dos serviços dos canais e comportas determinou uma grande diminuição da quantidade de sal dissolvido nas aguas da lagôa e o aterro do fundo por lamas e detritos vegetais autoctones e acarretados permitindo o excessivo desenvolvimento dos já referidos Characeas e Potamogenaceas. Entre estas se destacam pela sua abundancia a *Rupia maritima* e a *Chara maritima* pertencentes ás familias das Potamogenaceas e Characeas, segundo a determinação feita pelo ilustre e amavel Dr. J. Kuhlmann, competente botanico do D. Biologia Vegetal. As fotografias ns. 4 a 14 ilustram perfeitamente a situação atual da lagôa em relação ao desenvolvimento das plantas aquaticas e portanto a necessidade urgente de corrigir os defeitos apontados que justificam as queixas e que causam grande dano á vida dos seres marinhos que a procuram para realisarem as fases de sua evolução.

Depreende-se do exposto a importancia que tem a lagôa Rodrigues de Freitas e outras semelhantes do litoral, para a vida dos seres marinhos como um criadouro natural que necessita ser conservado e mantido nas melhores condições a realisação da sua finalidade. Assim sendo, a lagôa será procurada por milhares de peixes como a tainha, os robalos, os paralis, etc., e muitos outros seres que nela proliferarão em abundancia com aumento da sua riqueza em seres uteis ao homem nas proximidades da cidade, como por exemplo os camarões e siris.

MEDIDAS PROPOSTAS PARA A CORREÇÃO DA SITUAÇÃO DA LAGOA.

A situação atual da lagôa decorrente das causas assinaladas póde ser facilmente corrigida com a aplicação metodica e concomitante de medidas pouco dispendiosas e das quais resultarão, com segurança, beneficios para o publico e para suas finalidades biologicas.

Ao iniciarmos as pesquizas o teôr de cloretos variava entre 3,8 ‰ á 5,6 ‰ e por isso propuzemos que desde logo fosse instituida a abertura periodica da comporta do Oceano. Aceita a medida, quatro dias após a salinidade subia a 8,1 em alguns pontos, sendo o numero 6,4 o menor encontrado (Club Flamengo — zona de Characeas). Em 5 de Novembro de 38 a média das dosagens acusou 8,0 ‰ e todos notavam a sensivel diminuição da vegetação. Durante os mezes de Novembro e Dezembro as chuvas e portanto as enxurradas foram muito abundantes. A comporta com o oceano permanecia aberta, o que impediu que hou-

vesse baixa da salinidade e portanto aumento da vegetação incomoda. A 3-XII-938 a salinidade mais elevada encontrada era de 8,7 ‰ e a menor de 7,6 ‰. A 30-XII-938 com as abundantes chuvas de vespera a salinidade baixou para 7 ‰, embora a comporta estivesse aberta; não tinha havido tempo para se restabelecer o equilibrio. Nesta época resolveram fechar a comporta do oceano. Em 9-II-939 a vegetação era abundantissima e a salinidade, como se devia prever, muito baixara; variava de 4 a 8 ‰, sendo este ultimo numero obtido nas dosagens das aguas do canal do mar. Baseados nesses resultados, isto é, na relação existente entre o teôr de cloretos da agua e o desenvolvimento da vegetação existente, achamo-nos habilitados a sugerir medidas que corrijam o mal apontado, principalmente depois que foi cortada a comunicação com o oceano por mais de um mez e que novamente o desenvolvimento vegetal tomou incremento.

As medidas que aconselhamos são as seguintes:

1.º) Regularisação do funcionamento dos diferentes canais e galerias do sistema da lagôa por meio de aparelhos automaticos.

O canal que liga a lagôa ao mar tem cerca de 400 metros de comprimento e a largura de 12 metros na sua parte mais estreita sob a ponte que liga a Avenida Vieira Souto á Delfim Moreira entre Ipanema e Leblon. Nele ha uma comporta movida a braço, mas que póde funcionar. Cremos ser facil a sua motorização e regularização automatica em relação ás marés e ás chuvas (Est. 1 e Est. 3, fig. 3).

Haverá vantagem no estudo continuado das condições da entrada e saida de aguas, não só sob o ponto de vista fisico (volume, salinidade, temperatura, nivel de maré, etc.) como do biologico (migrações, plancton, etc.). A localisação de uma pequena estação biologica junto á comporta do canal maritimo permitiria a colheita de excelentes dados.

O canal Jardim Botanico-Leblon (Est. 1 e Est. 2, fig. 2), cuja função é coletar e desviar todo o excesso de agua doce da bacia, diretamente para o Oceano, acha-se em mau estado. Observamos varias vezes, que as aguas em vez de correrem do Jardim Botanico para o Leblon, através do prado do Jockey Club, vinham deste para a comporta da Ponte de Taboas. Está obstruido por lamas, areias, vegetais, etc., podendo-se mesmo notar em um ponto o desenvolvimento de vegetação arbórea. A sua limpeza trará o restabelecimento normal do transito das aguas. As comportas da Ponte de Taboas (Est. 2, fig. 1) necessitam reparos. A falta de conservação e funcionamento permitiram que se enferrujassem e se desmantelassem; não será dificil transforma-las em comportas eletricas e automaticas. O funcionamento racional delas permi-

tirá manter com pouco trabalho, a limpeza do canal aproveitando a força das enxurradas. As comportas do fim da Avenida Delfim Moreira, proximas ao Hotel Leblon, parecem em bom estado. As suas maquinas acham-se abrigadas em pequenos pavilhões coloniais nos quais a instalação de motores e comandos será facil e barata.

2.º) A limpeza e dragagem sistematica da lagôa.

A Prefeitura e particulares têm empreendido o arrancamento e remoção dos vegetais aquaticos, em pequena escala, porém, com bons resultados (Est. 8, fig. 14). Este processo feito continuadamente, por pequena turma de trabalhadores com material apropriado dará seguramente bons resultados. Cremos não ser conveniente a retirada brusca e massiça de tais vegetais pois servem de abrigo aos animais aquaticos nas suas fases evolutivas. A dragagem sistematica, pelo menos no momento atual é necessaria. Ha muitos anos fez-se tal serviço, com uma grande draga, que está hoje enterrada na areia e imprestavel, cuja perda acarretou prejuizo de mais de mil contos. O funcionamento de uma draga pequena, que escave 3 a 4 metros, permitirá a manutenção das bôas condições do seu fundo e de sua profundidade.

Como medida complementar, sugerimos a proibição do trafego de embarcações a motor. Os combustiveis usados e os produtos de combustão lançados ás aguas, são altamente toxicos para os sêres aquaticos, e pelo menos incomodos para o homem. Determinam eles epizootias que os alemães denominam justamente « Oel-Pest ».

Em resumo, os serviços de conservação da Lagôa Rodrigo de Freitas não tiveram continuidade, resultando desse fato o abandono de custosas instalações e obras que otimamente planejadas, não produzem o resultado esperado, mas talvez resultados nefastos, por terem modificado, sem inteligencia, os fenomenos da natureza.

CONCLUSÃO

Ao encerrar o presente trabalho, resumindo o que ficou dito, somos de opinião que é absolutamente necessario cuidar urgentemente de colocar a Lagôa Rodrigo de Freitas em condições de atender ás altas finalidades a que está destinada, como um centro de estudos de piscicultura natural e experimental, encravado no seio de uma grande cidade e como local de esportes e turismo dos mais accessiveis e agradaveis da nossa capital.

Está a se impor a instalação de um pequeno centro de pisciculcultura e hidrobiologia com o fim de estudar as condições de vida dos seres que a habitam. A este centro deveria caber a superintendencia dos serviços de controle de comportas, limpeza, dragagem, canais, determinações biologicas, fisicas e quimicas, assim como a fiscalisação da ção da pesca e de certos esportes.

No momento, as medidas mais urgentes são, por ordem de importancia:

a) A abertura regular e ritmada com as marés do canal para o Oceano.

b) O restabelecimento do funcionamento regular dos canais e galerias perifericas.

c) O arrancamento do excesso de vegetação aquatica.

d) Dragagem do fundo para retirada dos detritos e lamas.

Ao encerrar o nosso relatorio cumpre-nos agradecer á Diretoria do Club dos Caiçaras, todas as facilidades que nos dispensou para que tivesse sucesso o nosso trabalho.

Esboço da planta da lagôa, mostrando a distribuição dos vegetais em estudo. Reproduzido do trabalho do Dr. S. Jardim com algumas modificações.

Estampa 2

Fig. 1 — Comporta situada na ponte das taboas, regula a entrada da agua doce na lagôa.

Fig. 2 — Canal que conduz agua doce, parcialmente obstruido.

Fig. 1

Fig. 2

Aragão, Penido, Santos e Oliveira: Lagôa Rodrigo de Freitas.

Estampa 3

Fig. 3 — Comporta que mantem o oceano em comunicação com a lagôa.
Fig. 4 — Aspéto da vegetação — Characea — aflorando á superficie da agua.

Fig. 3

Fig. 4

Aragão, Penido, Santos e Oliveira: Lagôa Rodrigo de Freitas.

Estampa 4

Fig. 5 — O mesmo vegetal dificultando a progressão do remo.
Fig. 6 — Characeas em proliferação sub aquatica.

Fig. 5

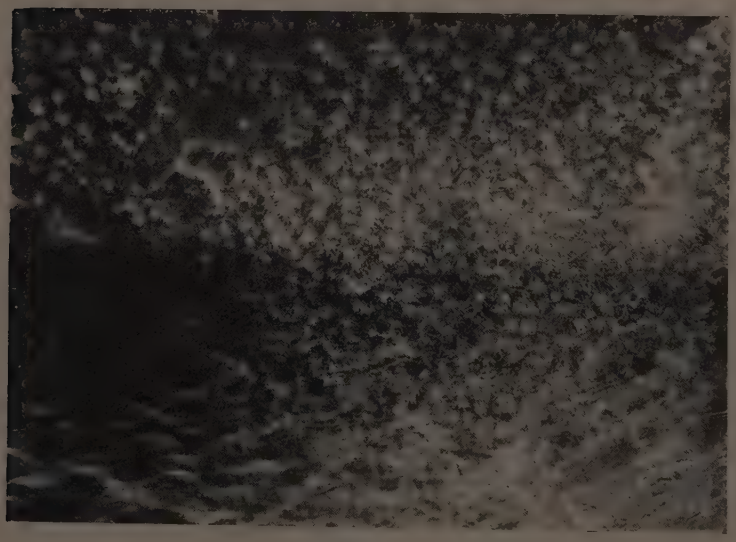


Fig. 6

Aragão, Penido, Santos e Oliveira: Lagôa Rodrigo de Freitas.

Estampa 5

Fig. 7 — Ruppias proliferando sob a agua.
Fig. 8 — Ruppias distribuidas na superficie da agua.

Fig. 7

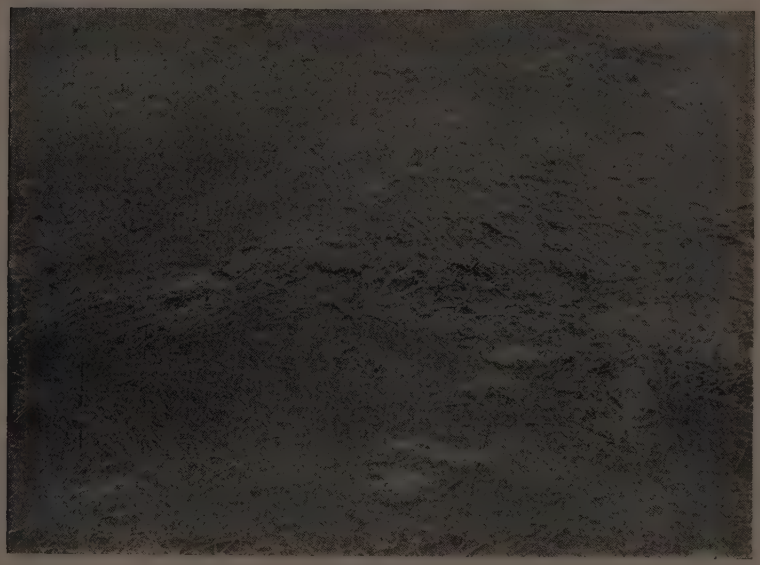


Fig. 8

Aragão, Penido, Santos e Oliveira: Lagôa Rodrigo de Freitas.

Estampa 6

Fig. 9 — O mesmo vegetal da fig. 8, noutro aspéto.
Fig. 10 — Ilhotas de Ruppias na superficie da agua.

Fig. 9

Fig. 10

Aragão, Penido, Santos e Oliveira: Lagôa Rodrigo de Freitas.

Estampa 7

Fig. 11 — O mesmo vegetal soerguidô da superficie da agua.
Fig. 12 — Aspétos de Characeas mostrando a quantidade e extensão em que proliferam.

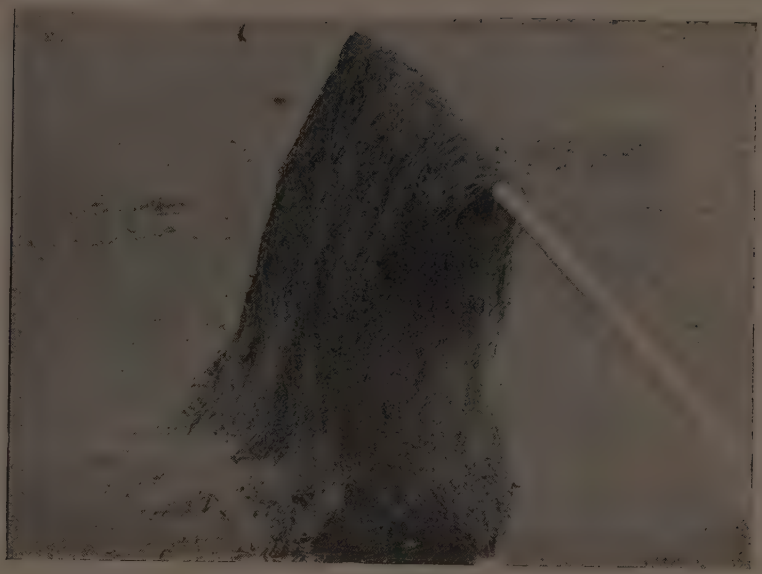


Fig. 11

Fig. 12

Aragão, Penido, Santos e Oliveira: Lagôa Rodrigo de Freitas.

Estampa 8

Fig. 13 — Aspétos de Characeas, mostrando a quantidade e extensão em que proliferam.

Fig. 14 — Arrancamento e remoção dos vegetais aquaticos.

Fig. 13

Fig. 14

Aragão, Penido, Santos e Oliveira: Lagôa Rodrigo de Freitas.

Atividade plastica especifica dos amino acidos *

I — Amino acidos da cortex suprarenal

por

N. Botafogo Gonçalves, J. Veiga Soares e
Candido Botafogo Filho

O organismo animal tem como principal constituinte as proteinas, substancias de grande complexidade, reguladoras e intermediarias nos fenomenos vitais. Se bem que entre as varias especies animais não haja uma diferença essencial na composição das proteinas que integram orgãos semelhantes, cada organismo procura, por meio de reações bioquimicas, manter a individualidade de suas proteinas, já reagindo de modo muitas vezes violento, contra a intromissão de proteinas extranhas, já desfazendo em seus componentes elementares, pelo processo digestivo, as que lhe são fornecidas na alimentação, destinadas ao crescimento e renovação de seus tecidos. A reconstituição da materia proteica se faz pela escolha de aminos acidos obtidos pela decomposição das proteinas ingeridas.

Ao contrario do que acontece com seus outros dois constituintes, os hidratos de carbono e as gorduras, não armazena o organismo, de um modo apreciavel, os componentes da materia proteica. Pela administração de quantidades excessivas de proteinas, póde-se observar pequeno aumento de alguns orgãos. A deficiencia da alimentação proteica é coberta, durante algum tempo, pelas proteinas de certos tecidos, especialmente do tecido muscular e do glandular.

Por outro lado, notamos que os disturbios na absorção dos constituintes da materia proteica são frequentes, evidenciando-se pelas reações anafilaticas ou de sensibilisação, de origem digestiva ou não, que revelam o protesto do organismo pela passagem através de sua barreira intestinal ou parenteral, de elementos nutritivos ou não, em fórma inadequada.

Podemos assim atribuir os disturbios que se observam frequentemente em consequencia do máo funcionamento de certos orgãos, a deficiencias na reconstituição de seus tecidos, pela imperfeição ocasional no suprimento de elementos necessarios a esta reconstituição. Até agora

* Recebido para publicação a 5 de Junho de 1939 e dado á publicidade em Novembro de 1939.

têm merecido interesse mais particular os hormonios elaborados por orgãos de função glandular, denominação esta que abrange uma classe de produtos de constituição quimica a mais diversa e que agindo em quantidades minimas como excitadores reciprocos dos orgãos, sintonisam o seu funcionamento.

Quando se nota deficiencia na produção de um desses hormonios por parte da glandula produtora, supre-se essa deficiencia administrando-se o hormonio correspondente elaborado por outro organismo. Com isto consegue-se restabelecer o equilibrio rompido, favorecendo a recomposição do orgão de modo a poder retomar as funções que lhe são proprias.

Ultimamente, alguns pesquizadores russos, revivendo conhecimentos antigos, que se encontram nos trabalhos de Abderhalden, têm estudado de modo particular a ação terapeutica dos amino-acidos obtidos por hidrolise dos tecidos de certos orgãos. Esses pesquizadores distinguem nessa mistura de amino acidos totais dos tecidos, dois efeitos fisiologicos: um plastico geral e outro especifico. Resalta desses trabalhos que as experiencias clinicas realisadas têm posto em evidencia, de um modo muito mais acentuado, o efeito plastico. Desse modo, parece ter-se generalisado na Russia o emprego terapeutico de uma mistura de amino acidos de diversos orgãos. O criterio para escolha dos orgãos para fornecerem os amino acidos dessa mistura permanece ainda obscuro. Constatado, pois, em um doente, o máo funcionamento de um ou mais orgãos, administra-se, por injeção subcutanea ou intramuscular, o conjunto de amino acidos que são aproveitados por esses orgãos na reconstituição de seus tecidos. Por outro lado, a ação dos amino acidos obtidos por hidrolise dos tecidos de um orgão, agindo de modo especifico sobre o orgão semelhante, quando injetado em um doente por via subcutanea ou intramuscular, foi tambem observada pelos referidos pesquizadores, se bem que atribuam a esse efeito um papel inteiramente secundario.

Tivemos ocasião de apresentar, em artigo anterior, observações clinicas sobre o efeito especifico dos amino acidos sobre os tecidos dos orgãos dos quais se originam (Ata Medica, Maio de 1938). Nas nossas observações, já numerosas, notamos sempre o efeito especifico de cada grupo de amino acidos sobre o tecido do orgão semelhante. Nesse ponto diferem totalmente as nossas observações do que tem sido relatado pelos pesquizadores russos; emquanto estes põem em segundo plano o efeito especifico dos amino acidos, achando que êles atúam mais acentuadamente na morfogénese geral dos tecidos, as nossas observações são abso-

lutamente concludentes quanto á predominancia absoluta do efeito especifico, sobre o efeito geral.

Ora, é sabido que os amino acidos não se armazenam no organismo e que o excesso de amino acidos nêle introduzidos desaparece prontamente do meio circulante, não só pela eliminação, especialmente sob a fórma de derivados, como tambem retidos no organismo depois de perderem seus grupamentos aminados, transformados em acidos graxos e uma pequena parte, podendo provocar um aumento de certos tecidos, como o hepatico e o muscular.

A quantidade que fixamos como terapeuticamente ativa, para o homem, é a de uma solução que contenha aproximadamente 200 miligramas de azoto amino acido por cento ou seja 4 miligramas de azoto amino acido em dois centimetros cubicos, quantidade que empregamos em injeções subcutaneas ou intramusculares, diariamente. Evidentemente essa quantidade é excessivamente pequena, não podendo produzir uma sobrecarga notavel de amino acidos na circulação. No entanto, o que se observa, é uma influencia pronta, estimulante do orgão deficitario.

Se esse efeito já tem sido aproveitado no tratamento de certas anemias pela administração de tecido hepatico ou estomacal, e póde ser atribuido a determinados componentes que tambem são encontrados em outros tecidos, poder-se-ia atribuir ás nossas observações favoraveis, sobre o emprego de hidrolisados desses orgãos nessa molestia, um caráter de inespecificidade. O mesmo, porém, não se póde dizer quanto ao emprego de outros produtos de hidrolise, como sejam os do tecido ovariano e os do tecido da cortex da glandula suprarenal, nos casos da deficiencia clinica da função secretoria desses orgãos.

No que diz respeito aos amino acidos provenientes da lise total de tecido ovariano, em fases diversas de desenvolvimento folicular, observamos que o seu emprego nos casos de amenorréa, restabelece a função menstrual. Nos disturbios provenientes da deficiencia luteinica, observamos pelo emprego do mesmo preparado, após o inicio da menstruação, em casos de regras dolorosas e abundantes, o restabelecimento da normalidade da função. Com nenhum outro lisado preparado com os tecidos de outros orgãos observamos qualquer influencia direta sobre a função ovariana.

Constitue objeto da presente comunicação o estudo dos amino acidos totais obtidos por hidrolise acida do tecido da cortex suprarenal.

I — GRUPO DE RATOS MEDIOS SEM SUPRARENAL

Rato N.	Peso inicial	Dias em experiencia	CC. injetados	Dóse diaria	Aumento de peso grs.	Aum. medio diario grs.	Observações
1	76	12	1,1	0,1	12	1	
	* 90	102	——	——	77	0,76	vivo em 2.5
2	90	29	2,8	0,1	47	1,6	
	* 78	83	——	——	65	0,78	« «
3	87	29	2,9	0,1	32	1,1	+ 67 Dias após oper.
	* 119	38	——	——	13	0,34	

II. GRUPO DE RATOS PEQUENOS SEM SUPRARENAL

a) não injetados

16	42	83	——	——	89	1,0	vivo em 2.5
17	42	10	——	——	6,5	0,65	+ 10º Dia
22	60	70	——	——	29	0,4	+ 70º Dia

b) injetados

18	48	18	0,95	0,05	1,5	0,008	+ 18º Dia
20	21	14	0,7	0,05	11,0	0,5	+ 14º Dia
23	34	8	0,35	0,05	1,0	0,12	+ 8º Dia
24	62	14	0,65	0,05	— 10	——	+ 14º «
25	55,5	43	0,75	0,05	4,5	0,10	+ 43º «
26	37,5	10	0,45	0,05	8,5	0,85	+ 10º «
27	36	29	9,75	0,05	17	0,58	+ 29º «

III. GRUPO DE RATOS TESTEMUNHAS NORMAIS

28	37	7	0,35	0,05	10	1,4
	* 47	61	——	——	97	1,6
29	38	7	0,7	0,1	10	1,4
	* 48	36	——	——	59	1,6
30	40	7	1,4	0,2	17	2,4
	57	36	——	——	87	2,4
31	38	7	2,1	0,35	12	1,7
	50	15	——	——	27	1,8
32	36	7	——	——	16	2,3
	52	36	——	——	82	1,4
33	38	7	——	——	18	2,6
	56	36	——	——	65	1,8

IV. GRUPO DE RATOS ADULTOS CASTRADOS E SEM SUPRARENAL

					Data da operação		
					Castração	Suprarenalisação	
4	122	14	2,2	0,2	24.1	7.1	vivo em 2.5
	* 154	83	——	——			
8	239	20	5.0	0,25	23.1	3.2	+ 24.2
9	300	19	5.0	0,3	24.1	27.1	+ 15.2
10	200	59	7.0	0,2	24.1	27.1	+ 28.3
11	261	36	8.0	0,25	26.1	30.1	vivo em 2.5
	* 230	50	——	——			
12	282	94	8.6	0,3	26.1	30.1	« « «
13	174.5	95	6.5	0,5	27.1	——	« « «

* Periodo em que os animais não ficaram submetidos a tratamento.

Apresentamos primeiramente experiencias realisadas em ratos brancos, tendo-os dividido em quatro grupos:

1.º Grupo — Ratos médios, machos, pesando de 76 a 90 grs. — Nestes ratos, após a retirada da suprarenal, administramos 0,1 cc. diariamente, de uma solução contendo 200 miligramas de azoto amino acido por cento. Esses animais mostraram, todos êles, um aumento médio de peso, maior durante o periodo em que estiveram sob o tratamento, do que no periodo em que dêle estiveram privados. Um dêles veio a morrer 67 dias após a operação e 38 dias após a suspensão das injeções. Pensamos que se deve interpretar o resultado dessa experiencia como tendo agido as injeções de amino acidos da cortex, no sentido de ativar as glandulas acessorias existentes. Essa ativação se traduziu pelo crescimento (indicado pelo aumento de peso) visinho da normal, emquanto os animais estiveram sob o tratamento. Uma vez suspenso este, houve uma diminuição de crescimento, mais notavel no rato 3, provavelmente possuidor de glandulas acessorias mais rudimentares, tanto assim, que veio a morrer dentro do prazo, ao passo que os ratos 1 e 2 sobreviveram.

2.º Grupo — a) animais não injetados — Ratos pequenos — pesando de 42 a 60 grs. Nestes animais as glandulas acessorias com função suplementar á cortex suprarenal, ainda não tinham atingido a um desenvolvimento suficiente que permitisse a sobrevida dos animais, após a retirada da suprarenal, excetuando-se o rato 16 que sobreviveu.

b) animais injetados — Ratos pequenos, machos, de 21 a 62 grs. de peso. A quantidade injetada nestes animais, apesar de ser 25 vezes mais forte, relativamente ao peso do animal, do que a quantidade estabelecida como dóse terapeutica ativa para o homem, foi incapaz de suprir a deficiencia do hormonio ou de estimular as glandulas acessorias incipientes, por isso, todos os animais morreram dentro do prazo e durante o periodo de tratamento.

4.º Grupo — Ratos adultos, castrados e sem suprarenal — Desse grupo o rato de n.º 4, bem como os de ns. 11 e 12, sobreviveram, provavelmente por não terem sido atingidas as glandulas acessorias pela operação de castração.

O de n.º 13 foi apenas castrado, servindo pois de testemunha para os efeitos dessa operação. Nesse grupo não se póde levar em conta a alteração de peso, para menos em todos os animais com exceção dos de n.º 4 e 13, um em periodo de crescimento e outro apenas castrado, porquanto os animais restantes já haviam atingido o desenvolvimento

maximo. As experiencias desse grupo demonstram que na maioria dos ratos, as injeções de amino acidos da cortex foram incapazes de substituir o hormonio produzido por esse tecido.

OBSERVAÇÕES CLINICAS

I Obs. — N. A. Casado, 42 anos de idade, côr branca. Na sua historia pregressa acusa sarampo, coqueluche e blenorragia. Ha cinco anos, depois de uma intoxicação alimentar, nunca mais gozou saude e uma dispepsia e astenia quasi diarias o dominavam. Com regimen e medicação adequada melhorou da dispepsia, sem melhorar no entanto da sua astenia. Fez uso de preparados á base de cola, glicerofosfatos, extratos hepaticos, etc., sem obter resultado. Aconselhamos o uso de amino acidos da cortex suprarenal, diariamente; já na terceira injeção começou a se sentir melhor e rapidamente readquiriu sua capacidade de trabalho que ha anos tinha perdido.

II Obs. — H. C. Côr branca, 32 anos, solteira, funcionaria publica. No passado teve sarampo. Ha alguns anos sente-se nervosa, com pouca disposição para o trabalho e disturbios catameniais. Com medicação adequada rapidamente se curou da dismenorréa. Continuou porém com o abatimento, tendencia a engordar, desanimo ao despertar e no trabalho. Tolerou mal a medicação tiroidiana. Foram-lhe administradas 30 injeções de amino acidos da cortex suprarenal, em injeções diarias, já na 5.ª injeção comunicou achar-se bem disposta e recuperada. Emagreceu 3 kilos durante o tratamento.

III Obs. — J. D. Português, casado, branco, 52 anos de idade. Teve as molestias da infancia, serviu no exercito português na Africa, aí adquirindo lues e blenorragia. Ha oito anos começou a sentir os primeiros disturbios circulatorios, consequencia de um aneurisma em expansão, atingindo hoje a notaveis proporções, comprimindo o mediastino e o pulmão esquerdo e agravando cada vez mais seus padecimentos. Prostatico, com acentuadas crises de cistite, aos poucos foi se intoxicando, apresentando ora quadros renais, ora quadros hepaticos. Recentemente, após prolongada e abundante piuria acompanhada de hipertermia, caiu em invencivel astenia. Raramente abandonava o leito e as medicações adequadas ao caso não logravam melhoras; foi-lhe ministrado injeções de amino acido da cortex suprarenal e com surpresa geral, depois de uma semana de tratamento já se levantava para tomar suas refeições e um mês após já conseguia ir ao escritório onde havia anteriormente trabalhado, em visita a seus antigos camaradas. Aposentado em consequencia das lesões organicas que o impedem de trabalhar, apela constantemente para as

injeções da solução de amino acido da cortex, « por ser realmente seu unico remedio », como diz.

Obs. IV — N. S. Branca, brasileira, de 22 anos de idade, casada. Historia pregressa sem interesse. Casada ha dois anos foi logo acometida de violenta infecção gonocócica que invadiu-lhe as trompas. Depois de 8 mêses de tratamento teve alta julgando-se curada. Ficou gravida, a gestação foi normal, o parto laborioso e seguido de infecção puerperal.

Após dois mêses de permanencia no leito restabeleceu-se, sendo levada para Petropolis, afim de convalescer. Bem alimentada e apesar da medicação reconstituinte instituida, sentia uma invencivel fraqueza e constantes manifestações de lipotimia. Instituido o tratamento com injeções de amino acido de cortex, rapidamente se restabeleceu.

Obs. V — J. C. N. Branco, de 32 anos de idade, viuvo. Contraiu tifo e sarampo na infancia. Ha tres anos adquiriu impaludismo, do qual custou a se desembaraçar por deficiencia de medicação. Daí para cá nunca mais sentiu-se bem, queixando-se de abatimento constante, apezar de exteriorisar saúde. Não sentia a menor disposição para o trabalho e seu desejo era constantemente procurar a cama. Fez medicação hepatica e tonica sem resultado. Com as primeiras injeções da solução de amino acidos da cortex começou a sentir melhoras e após um mês e meio de tratamento, recuperou sua antiga atividade.

CONCLUSÕES

As experiencias acima parecem demonstrar que os amino acidos obtidos por hidrólise do tecido da cortex suprarenal, agem sobre o tecido de orgão semelhante, como excitadores, provocando sua reconstituição plastica. Esse modo de ação é totalmente diverso do dos hormonios, porquanto, estes restabelecem o equilibrio funcional alterado, ao passo que aqueles favorecem diretamente a recomposição do orgão.

No estudo da ação fisiologica desses amino acidos, verificamos primeiramente seus efeitos em doentes com sinais de deficiencia hormonal.

As experiencias em animais serviram para demonstrar que naqueles nos quais era de prever a existencia de glandulas acessorias com tecido identico ao da glandula principal, que foi retirada, injeções subcutaneas do mesmo tecido hidrolisado até a obtenção de amino acidos, excitava esse tecido remanescente, de modo a suprir a glandula retirada.

Nos animais em que essas glandulas acessorias não tinham atingido a desenvolvimento suficiente, dóse equivalente injetada, revelou-se incapaz de restabelecer a normalidade.

BIBLIOGRAFIA

NIKOLAJEW, M. P.

1936. Sobre as propriedades pharmacodynamicas dos histolysados segundo o Prof. Tuschnow.
Sobre a acção especifica dos histolysados provenientes das glandulas sexuaes, *in* Chem. Centr., **2** : 1009.

GENESS, S. G. & CHAIMOWITSCH, L. A.

1936. A composição em azoto dos histolysados, *in* Chem. Centr., **2** : 3141.

STEPPUN, O., GUBAREW, F. & YGAROWA, N.

1936. Os parahormonios como factores de actividade dos lysados, *in* Chem. Centr., **1** : 3854.

KASAKOW, I. N.

1936. Mechanismo de acção dos Autoclave-lysados de baixo peso molecular, *in* Chem. Centrbl., **2** : 4230.

STEPPUHN, O.

1936. Addenda ao artigo de I. N. Kasakow, *in* Chem. Centrbl., **2** : 4230. Ver egualmente Chem. Centrbl., **1** : 3854.

GALDBERG, L. L.

1936. Influencia dos lysados sobre as condições de funcionamento do Mesenchyma, *in* Chem. Centrbl., **2** : 3136.

GORODETZKI, E. JE.

1936. Sobre a questão da activação inespecifica da insulina, *in* Chem. Centrbl., **2** : 3135.

LEVIN, F. B. & NARYSCHKINA, M. A.

1937. A curva dos acidos aminados no sangue dos doentes do figado depois de sobrecarregada de amino acidos, *in* Chem. Centrbl., **2** : 95.

GALWJALO, M. J.

1937. Sobre as caracteristicas chimicas dos lysados segundo Tuschnow, *in* Chem. Centrbl., **1** : 1717.

LARRAIN, A. R., ROBERTS, R. G. & KUNDE, M. M.

1937. Formação de uma substancia semelhante á adrenalina no autolysado da suprarenal. Am. J. of Physiol., **115** : 662-4, *in* Chem. Centrbl., 1937, **1** : 1967.

DAKIN, H. D., UNGLEY, C. C. & WEST, R.

1936. Observações sobre a natureza chimica de uma substancia hematopoietica existente no figado. J. Biol. Chem., **115** : 771-87, *in* Chem Centrbl., 1937, **1** : 4524.

CARTLAND, G. F. & KUIZENGA, M. H.

1936. As provas biologicas dos extractos da capsula suprarenal. Amer. J. of Physiol., **117** : 678-85, *in* Chem. Centr., 1937, **1** : 4810.

ROFFO, A. H. & VILLANUEVA, J.

1927. A acção de hydrolysados de orgãos e tumores sobre as cellulas neoplasticas. Bol. Inst. Med. Experm. Buenos Aires.

1932. Mario Rigoni. II — Valor hematopoietico dos hydrolysados de hemoglobina introduzidos por via parenteral. Bull. Soc. Ital. Biol. Experm., 1932 (7) : 1000-3.

LEWENSSON, J. A. & AGOL, M. I.

1938. Acção continua dos productos de hydrolyse da albumina e da histamina sobre a secreção do estomago, *in* Chem. Centr., **1** : 112.

SMIRNOWA, M. W. & GEORGI JEWSKI, S. I.

1938. Sobre a conservação de hormonios nos hydrolysados preparados differentemente, *in* Chem. Centr., **1** : 920.

ARSENJEW, A. F. & CHLEBNIKOW, N. I.

1938. Acção dos productos de hydrolyse da albumina em autoclave, sobre o crescimento de frangas, *in* Chem. Centr., **1** : 924.

OJUBOWZOWA, K. D. & GLEBOWA, M. S.

1938. Contribuição ao conhecimento da composição chimica e das propriedades hormonaes do extracto do chorion humano, *in* Chem. Centr., **1** : 920.

JUDELESS, A. L.

1938. Reacção physiologica da introducção dos acidos aminados no organismo, *in* Chem. Centr., **1** : 929.

A transmissão da lepra pelos mosquitos e a sua profilaxia *

pelo

Dr. Adolpho Lutz

Em fins de 1937 recebi da Pan-American Medical Association o convite de tomar parte no seu 7.º Congresso e de contribuir com uma memoria á sua Seção de Medicina Tropical. Não me sendo possivel participar do certamen, realisado em Havana, no mês de Janeiro de 1938, enviei o trabalho que segue e que despertou interesse e atenção. Trata de um dos problemas mais graves da Medicina ainda não solucionados, o da Lepra. Urgindo essa solução, dado o numero elevado de vitimas da morféa e sendo, ao meu vêr, impossivel eradical-a enquanto a sua profilaxia não fôr orientada num sentido inteiramente diverso do atual, resolvi publicar o trabalho em questão.

Faço-o seguir de uma indicação das regras que devem ser observadas na realisação das experiencias destinadas a evidenciarem a possibilidade da transmissão culicidiana de germens patogenicos pertencentes ao mesmo grupo que os da morféa. Estas regras foram apresentadas á Academia Brasileira de Ciencias em 1935, na ocasião em que fui distinguido por aquela corporação cientifica, com o premio Einstein.

A idéa da transmissão da lepra pelos mosquitos não representa uma inovação. Foi lembrada por varios observadores, quando os nossos conhecimentos sobre a importancia destes hematofagos como transmissores de doenças ainda eram rudimentares. Prevalecia então a suposição de que os mosquitos funcionavam como simples lancetas de vacina, inserindo os seus orgãos bucais nos tecidos morbidos de leprosos e a seguir na pele de pessôas sãs, infeccionando-as. Essa interpretação era simples demais, não se coadunando com o mecanismo de propagação observado em outras doenças graves transmitidas pelos mosquitos, e não logrou obter uma aceitação geral.

Antes de entrar no estudo da transmissão culicidiana da morféa,

---

* Recebido para publicação a 20 de Junho de 1939 e dado á publicidade em Novembro de 1939.

devemos recordar as primeiras observações sobre certos parasitas do sangue humano que se desenvolvem nos mosquitos. Foram realisadas por Manson, sobre *Filaria bancrofti*, já em 1877. O mecanismo da transmissão, entretanto, só foi elucidado em 1900, por Bancroft e Low. Anteriormente (1888-1889), Smith e Kilbourne já tinham demonstrado a transmissão da Febre de Texas pelos carrapatos e Ross e Grassi a da malaria pelos mosquitos (1898). Finalmente foi experimentalmente estabelecida por Caroll e Reed, em Cuba, a transmissão da febre amarela por um mosquito domestico e confirmada em São Paulo, no mesmo ano, por alguns voluntarios que se prestaram á experiencia, entre os quais o dr. Emilio Ribas e o autor.

Só depois destas pesquisas e de confirmada a justesa pelos resultados da profilaxia anticulicidiana, foi reconhecida a importancia dos sugadores de sangue na transmissão de doenças.

Tornou-se tambem evidente que não se tratava de um processo simples de punção e inoculação, mas que a mudança de hospedadores é essencial ao desenvolvimento do parasita e que um lapso de tempo é indispensavel para que o hospedador intermediario hematofago se torne infeccioso. Eis porque as experiencias de Finlay não puderam fornecer a prova da transmissão da febre amarela pelo mosquito. Ignorava o pioneiro que dez ou onze dias de intervalo decorrem entre a picada que infecciona o mosquito e aquela que propaga a febre amarela a outra vitima.

No fim do século passado a peste resurgiu em muitos logares, conduzindo á descoberta do seu germen causador, mas o fato de ser a transmissão efetuada pelas pulgas de ratos que mordem o homem só ficou evidenciado após muitos anos de estudo paciente e meticuloso.

A descoberta do papel desempenhado pelos insetos e aracnideos hematofagos, na transmissão das doenças, pertence ao fim do século passado, mas só no inicio do século presente foi empreendida a investigação sistematica de todos os sugadores de sangue, parasitas permanentes e temporarios. Os resultados foram interessantes; ficou demonstrado que tanto as espécies de hematofagos como as doenças por elas transmitidas, são muito mais numerosas e variadas do que se poderia supor. Um estudo recentemente publicado em conjunto por mim e pelo dr. G. de Oliveira Castro, sobre as doenças do homem e dos animais domesticos transmitidas por hematofagos (Bibl. n.º 1), mostra que tanto os parasitas como os transmissores pertencem a muitas classes, desde os mamiferos (morcegos) e os vermes (sangue-sugas), até os aracnideos (carrapatos e acarinos) e os insetos (dipteros e hemipteros, estes menos numerosos mas egualmente importantes, as pulgas e os piolhos). Além

de muitos vermes (principalmente Filarias) e Protozoarios, transmitem Schizomycetos (bacterios) e diversas doenças de virus. Já se pode avaliar em muitas dezenas os processos infecciosos transmitidos, exclusivamente ou principalmente, por sugadores de sangue e o seu numero cresce continuadamente.

E' perfeitamente licito dizer, hoje em dia, que o animal hematofago é o *meio normal de passagem* dos parasitas do sistema circulatorio de um individuo a outro. Toda doença nova deve ser sujeita a investigação sob esse critério.

Pessoalmente venho estudando os hematofagos da America do Sul, ha mais de meio século, e calculo existirem varias centenas de especies, das quais ao menos 300 só de dipteros. Quanto ás doenças humanas os mosquitos comuns (*Culex*, *Stegomyia*, *Anopheles*) e as espécies de *Phlebotomus* são os mais perniciosos.

Em relação aos animais as motucas (*Tabanideos*) se revestem atualmente de interesse especial. E' muito rica a familia, tanto em individuos como em especies, e o seu papel patogenico ainda não tem sido investigado cientificamente. Varios zoologos já descreveram os insétos e aracnidios em diferentes paises, no começo do século dezenove. Os mosquitos sendo frageis, e prestando-se mal ao transporte e á conservação, deram logar a uma sinonimia extensa, o que não deve ocorrer agora em relação aos *Tabanideos*, maiores e mais faceis de conservar.

Em 1926, apareceu um extenso relatorio sobre a transmissão do dengue pelo *Stegomyia aegypti*. Este mosquito, que transmite a febre amarela, tambem causa epidemias de dengue, doença que sendo, praticamente, sem mortalidade, poude servir á realisação de experiencias. Estas foram feitas nas Ilhas Philippinas, vindo os resultados obtidos confirmar os dados anteriores sobre a transmissão (2).

Depois de praticamente terminadas as investigações referentes á febre amarela e á malaria, Blanchard deu um excelente sumario dos argumentos a favor da transmissão culicidiana da lepra (3). Em consequencia destes, ou de considerações similares, varios leprologos passaram então a examinar mosquitos que tinham picado morfeticos e em alguns casos, neles encontraram bacilos acido-resistentes. Outros fizeram pequenas experiencias com picadas de mosquitos, ambos sem obterem resultados convincentes.

Conforme já demonstrei em publicações anteriores, é facil verificar que estas experiencias não foram conduzidas por métodos rigorosos, que permitissem formular conclusões. Além de outras falhas, não foi tomado em consideração o intervalo necessario á incubação do germen no corpo do mosquito.

E' evidentemente inaconselhavel que se proceda a experiencias de transmissão da lepra em seres humanos. Existem, porém, varios processos morbidos parasitarios, semelhantes á lepra, em passarinhos, ratos e bufalos (carabao, i. e. *Bos bubalos*), permitindo realisar experiencias em animais. Nestes processos infecciosos semelhantes á lepra foram encontrados organismos que pela sua forma, numero e reações aos corantes, se avisinham do organismo da lepra, aliás erroneamente denominado *Mycobacterium leprae*. Já em 1886, após investigações cuidadosas sobre a sua morfologia e reações para com os corantes, propuz para o mesmo e o da tuberculose o nome generico de *Coccothrix*, que tem prioridade incontestavel (4).

A transmissão da lepra pelo mosquito sempre me pareceu verosimil, principalmente depois de ter observado como eram comuns em Hawaii, os mosquitos domesticos (*Stegomyia aegypti* L. e *Culex quinquefasciatus* Say , emquanto outros dipteros sugadores de sangue primavam pela sua ausencia do archipélago.

Naquela época, entretanto, o papel dos mosquitos na transmissão das doenças não estava suficientemente evidenciado para que a minha idéa passasse de méra suposição. Nos ultimos 25 anos, tenho porém voltado varias vezes ao assunto, insistindo sobre a probabilidade de serem os mosquitos domesticos os unicos transmissores da morféa, dando uma série de argumentos logicos, que nenhum leprologo, ao menos sul-americano, tem o direito de ignorar.

Em 1936 fiz uma revisão sumaria de toda a literatura, publicando um trabalho extenso sobre a transmissão da lepra, em alemão, com um resumo em portuguez e inglez. Appareceram sumarios em revistas médicas francezas e italianas e separatas foram distribuidas pelos leprologos de varios paises, ficando assim divulgada a idéa dessa transmissão. Como acontecêra em outras ocasiões, recebi uma série de comunicações em apoio das minhas observações, entre outras do Dr. Jesus M. Gomes, de Guindolim, Gôa, Indias Portuguezas e do Dr. Peskcowsky, Diretor do Leprosario Experimental e Clinico de Krasnodar, encarregado do trabalho epidemiologico da lepra, no territorio de Azor ao Mar Negro. Este declara que os seus pacientes provêm todos de regiões infestadas por mosquitos e que muitos nunca se tinham avistado com outros morpheticos. Desta vez as minhas idéas não suscitaram uma oposição renhida, como ocorrêra em publicações anteriores, parecendo-me pois que está bem comprovado o que afirmei.

Os principais argumentos a favor da transmissão culicidiana, acham-se extensamente explanados na minha publicação referida (5). Apresento-os, pois, apenas resumidamente, aqui.

I — Centenas de casos importados, internados nos hospitais de Paris, Londres e Vienna, não infeccionam os pacientes, médicos, enfermeiras e outras pessôas. Doentes infeccionados em paises infestados pela morféa não produzem fócos de lepra nos paises indenes.

Estes fatos só podem ser explicados pela ausencia de um transmissor, que sirva de élo entre o doente e o são.

II — Muitas pessôas, infectadas com lepra, entre os quais um bom numero de pacientes meus, nunca tiveram contato direto com leprosos, localisando-se as suas primeiras lesões nas partes do corpo normalmente expostas ás picadas dos mosquitos, como sejam o rosto e as mãos.

Os hematofagos não pertencentes á Ordem dos Dipteros, p. ex. as pulgas e os percevejos, não podem ser inculpados, porque são tão comuns nos paises livres de lepra como naqueles ondç a lepra existe, quer permaneça estacionaria, quer tenda a se alastrar.

III — Os mosquitos abundam em todos os paises onde a lepra é endemica.

Em Hawaii, onde estudei a lepra pessoalmente, a introdução dos mosquitos foi seguida de uma disseminação rapida da morféa, tornando-se o arquipelago um dos seus fócos mais intensos. As culturas extensas de arroz e de taro forneceram, indubitavelmente, excelentes criadouros aos mosquitos introduzidos. E' provavel que o mesmo fenomeno tenha ocorrido em todas as ilhas da Polynesia, onde tanto o mosquito como a lepra eram outrora desconhecidos.

IV — As experiencias diretas de transmissão da lepra pela inoculação de seres humanos e animais sempre deu resultados negativos, o que demonstra não ser esse o meio normal da transmissão.

V — O *Coccothrix*, da lepra, como o da tuberculose, nem sempre se apresenta acido-resistente. Mostra granulações livres ou enfileiradas.

E' bem possivel que estas granulações, que são filtraveis, sejam a forma infecciosa do germen causador.

Não obstante esta série de observações, os leprologos ainda não se compenetraram da urgencia das medidas profilaticas anticulicidianas, muito embora sejam outramente promissoras de resultados do que o tratamento individual dos casos diagnosticados.

Na maioria dos paises onde a lepra se acha em via de franco progresso, ou quando muito permanece estacionaria, a legislação e a praxe sanitarias ignoram a profilaxia culicidiana. Não devem os higie-

nistas esquecerem, entretanto, que os mosquitos não são limitados aos paises quentes, mas são encontrados em todas as regiões onde a lepra é endemica. A palavra *mosquito* não é de uso universal, mas a profilaxia culicidiana deve abranger todos os Culicideos sugadores de sangue, seja qual fôr a sua denominação vulgar. Estes oferecem especial perigo quando ocorrem nas casas ou na visinhança das habitações humanas.

O estudo dos Culicideos já está bastante adeantado, tendo sido descrita a maioria das formas de importancia médica. As autoridades sanitarias não assiste pois o direito de desconhecê-las, já que constituem um dos capitulos mais importantes da Higiene Publica. Onde a febre amarela, o dengue e a malaria existem a profilaxia anticulicidiana já é conhecida e, em geral, praticada com energia. A sua técnica já foi elaborada e amplamente divulgada, tornando-se desnecessario voltar a explanal-a. Basta tornal-a extensiva aos fócos de lepra.

Limito-me pois a indicar as regras indispensaveis que merecem ser observadas pelos higienistas, mesmo por aqueles que não admitem o mosquito como unico meio de transmissão da morféa.

Eil-as, em conclusão:

I — Em todo hospital que admite leprosos, deverá haver uma pessôa, ao menos, encarregada de exercer profilaxia anticulicidiana, incessante e rigorosa.

Nos leprosarios e hospitais maiores de leprosos, deverá ser um entomologista ou médico especialisado. Todo mosquito encontrado deverá ser classificado e registrado; as especies encontradas devem constar dos relatorios periodicos do estabelecimento.

II — Ao ser admitido, todo paciente será interrogado sobre as condições existentes em relação a mosquitos, no logar onde provavelmente adquiriu a infecção. As suas afirmativas deverão ser rigorosamente controladas por outras investigações. Para fins de estatistica as primeiras localisações cutaneas deverão ser anotadas, em todos os casos novos de morféa.

III — Os doentes febris e aqueles cuja doença está progredindo rapidamente, deverão ser isolados em enfermarias especiais, revestidas de téla de arame irremovivel.

IV — Os leprosarios e hospitais de leprosos deverão ser localisados em logares não sujeitos a invasão por mosquitos de brejo ou por especies silvestres, muito embora os mosquitos domesticos sejam os mais suspeitos. As habitações de leprosos não deverão oferecer esconderijos

aos mosquitos, como sejam os cantos escuros nem serem revestidas de papeis ou pinturas sombrias. Todas as aberturas deverão ser permanentemente revestidas de téla. Nenhuma habitação humana será permitida na visinhança, sob pena de se vêr incluida nas medidas mais rigorosas de profilaxia anticulicidiana.

V — Antes de ser colocado o revestimento de téla, todos os mosquitos encontrados nos prédios, dependencias e imediações deverão ser colecionados e examinados. Daí em deante serão revistados diariamente, afim de descobrir quaisquer criadouros eventuais. As larvas encontradas serão criadas e determinadas as espécies a que pertencerem.

VI — Em todas as regiões onde a lepra existe é indispensavel seja feito um estudo completo, taxonomico e biológico, da fauna local de dipteros e hematofagos, abrangendo a observação dos seus habitos afim de orientar a profilaxia.

A profilaxia anticulicidiana é sempre util, prescindindo de justificação.

O isolamento dos leprosos, tal qual é praticado atualmente, existe ha milhares de anos, em certos paises, como na China por exemplo, sem conduzir á eradicação da morféa. Cem mil casos novos surgem anualmente no mundo. Dadas estas circunstancias, é ilógico e cruel segregar seres humanos em condições que não representam proteção adequada aos sãos.

VII — Quando os métodos antigos se mostram deficientes e inadequados, uma metodologia nova se impõe.

EXPERIENCIAS DESTINADAS A PROVAR A POSSIBILIDADE DA TRANSMISSÃO DA LEPRA PELOS MOSQUITOS

Proponho que as experiencias sejam feitas infectando-se mosquitos escolhidos entre as espécies que picam facilmente. O mosquito noturno comum, *Culex quinquefasciatus*, é especialmente suspeito de transmitir a lepra, mas não se presta muito bem para experiencias porque só pica ás escuras. *Stegomyia* não convém usar por varias razões. E' preferivel aproveitar espécies que picam facilmente, aplicadas em tubos fechados com gaze ou téla de arame. São estas, por exemplo, as espécies dos gêneros *Mansonia*, *Taeniorhynchus* e *Ianthinosoma*. A mais facil de obter é *Culex*, hoje *Ochlerotatus*, *scapularis*, abundante nos jardins arborisados. Convém estender as experiencias a varias espécies do gênero *Coccothrix* (1886), nome que tem a prioridade

sobre *Mycobacterium*. Entre estas indico as diversas raças do bacilo de tuberculose e o bacilo de Stefansky, o qual produz nos ratos uma molestia que tem afinidades com a lepra. Destas especies existem culturas de autenticidade indubitavel.

Convém trabalhar tambem com varias culturas de bacilos isolados de casos de lepra, mas sómente em ultimo lugar e depois de ter experimentado com as outras culturas mencionadas, principalmente as da tuberculose.

Na tuberculose convém excluir as raças mais virulentas. Póde-se usar a de Guérin e Calmette, mas esta é pouco favoravel para experiencias com animais de laboratorio. Julgo mais pratico trabalhar com tuberculose bovina e aviaria que se prestam melhor para este fim e oferecem menos perigo para o homem. O mesmo póde-se dizer do bacilo de Stefansky.

Para infectar os mosquitos póde-se usar estas culturas misturadas com sangue fresco desfibrinado ou com mel diluido. Os mosquitos devem ser conservados vivos durante algum tempo, de preferencia completamente ás escuras, para que se possa repetir as experiencias e afim de dar o tempo necessario á incubação do germen no corpo do mosquito. Aqueles que morrem são empregados para exame microscopico depois de se lhes tirar as pernas que se contaminam facilmente. A proboscida deve ser examinada separadamente. As glandulas salivares e o corpo são utilisados para exame microscopico ou para inoculações em animais. Tanto nos animais inoculados como nos mosquitos deve-se procurar não sómente os germens acido-resistentes, mas tambem outras formas semelhantes.

A primeira questão a decidir é determinar durante quanto tempo os bacilos podem ser encontrados vivos no corpo do mosquito. Si não desaparecerem logo dos orgãos internos, estes poderão servir para inoculações em animais e tentativas de cultura em varios periodos. A infecção dos mosquitos tambem pode ser feita deixando-os sugar diretamente no homem e nos animais portadores da doença. Este método promete, comtudo, poucos resultados si não fôr aplicado ás lesões cutaneas, e por isso se aplica principalmente á lepra do homem e á molestia do rato, produzida pelo bacilo de Stefansky. Estando a epiderme intacta, será possivel evitar a contaminação das partes externas do mosquito.

Na lepra convém escolher para experiencias casos em que o processo é recente e, de preferencia, aqueles que se acham em via de progresso rapido, principalmente os casos que apresentam febre, indicando a circulação do organismo causador no sangue.

Já ha muitos anos fiz algumas experiencias, aplicando os mosquitos nos tuberculos leprosos que estão sempre cheios de bacilos acido-resistentes, formando geralmente aglomerações em zoogloea. Nas minhas experiencias os bacilos acido-resistentes não foram encontrados nos mosquitos. Outros observadores, porém, parecem ter sido melhor sucedidos. Hoje atribuo pouca importancia ao resultado negativo, porque considero as fórmas acido-resistentes, embora comodas para o diagnostico, como fases ulteriores, pouco ativas.

Quero lembrar aqui que nas manchas hiperemicas, que considerei como inicio do processo, pelo menos em grande proporção dos casos por mim observados, não se costuma encontrar bacilos acido-resistentes, tendo o diagnostico que ser feito sem este auxilio.

Todavia, póde se encontrar as fórmas acido-resistentes nos ganglios linfaticos que correspondem a tais manchas iniciais. Considero muito importante fazer experiencias nestas manchas, que, ao meu vêr, devem conter indubitavelmente o virus inoculado. por picada de mosquito, e que se encontram quasi sempre nas regiões accessiveis a este, principalmente no rosto mas tambem nas mãos e nos pés. São muito resistentes aos tratamentos locais e gerais e vão se estendendo em direção centrifuga, independentemente de territorios nervosos e vasculares.

Embora a tuberculose, em regra geral, não seja espalhada por sugadores de sangue, existe uma fórma provavelmente produzida por picadas de dipteros hematofagos. E' o *Lupus vulgaris*, tambem geralmente situado no rosto e mais raramente nas mãos. Julgo que a maior parte dos casos seja de tuberculose bovina, o que explica a benignidade relativa deste processo, eminentemente crônico.

Do bacilo da tuberculose tambem existem fórmas não acido-resistentes, por exemplo, nas granulações fungoides das artrites tuberculosas.

Examinei muitas vezes a urina de casos suspeitos de tuberculose renal sem encontrar fórmas acido-resistentes. Inoculando, porém, um pouco do deposito, obtido por centrifugação, na região inguinal de uma cobaia, já duas ou tres semanas depois, encontrava um ganglio linfatico entumecido que, extirpado, revelava a presença de bacilos acido-resistentes.

Surge agora a questão dos animais de experiencia. As cobaias e os coelhos prestam-se para as diversas fórmas da tuberculose, os ratos para o bacilo de Stefansky e os macacos para a lepra humana. Procurando obter alguma lesão, pelo menos local, experimenta-se, com picadas, que podem ser repetidas, ou por inoculações com mosquitos triturados em pouco liquido. Estes podem ser lavados em álcool e cha-

muscados ligeiramente para desinfetar as partes externas. Por este processo tambem podem ser inoculados meios nutritivos apropriados.

Convém repetir estas experiencias com a maior frequencia possivel na esperança de obter um ou outro resultado positivo. Bastará obter resultados positivos com um só destes germens para demonstrar a possibilidade da transmissão das espécies de *Coccothrix* pelos mosquitos.

The Transmission of Leprosy by Mosquitos and its Prophylaxis

by

Dr. Adolpho Lutz

This paper was presented to the Section of Tropical Medicine, of the 7th Cruise-Congress of the Pan American Medical Association, whose invitation to be present at the meeting held at Havana, in January 1938, I was unable to accept.

The subject was chosen as leprosy is one the most important medical problems as yet unsolved and I do not believe its eradication to be possible until methods of prophylaxis are subjected to an entirely different approach.

Following the paper a series of experiments are suggested for the demonstration of the possibility of the transmission of pathogenous germs belonging to the same group as that of leprosy by mosquitos. They and the methods to be used were first suggested by me at a meeting of the Brazilian Academy of Science, when I received its Einstein Prize (1935).

The idea of the transmission of leprosy by blood-sucking insects is not new. It was stated by various observers already at a time when our knowledge of their importance was still quite rudimentary. The supposition then prevalent was that the insects functioned somewhat like vaccine-lancets, first inserting their mouth-parts in the diseased tissue of a leper, then in the healthy skin of another person, thus infecting him or her. This simple point of view did not, however, agree sufficiently with the mechanism of propagation observed in other important mosquito-transmitted diseases, to make it generally acceptable.

Let us recall some of these, for instance the first observations on human blood-parasites developing in mosquitos. These were made as early as 1877 on *Filaria bancrofti* by Manson. The process of transmission, however, was only explained in 1900 by Bancroft and Low. Before this (1888-1889), Smith and Kilbourne had already demonstrated the transmission of Texas fever by ticks, and Ross and Grassi that of malaria by mosquitos (1898). Finally the transmission of yellow-fever by a house-mosquito was experimentally established in Cuba by Reed and Caroll and confirmed in the same year in S. Paulo (Brazil),

by some volunteers, among whom Dr. E. Ribas and the author of this paper.

It was only after these investigations had taken place and were confirmed by the results of anti-mosquito prophylaxis that the importance of blood-sucking animals in the spreading of infectious diseases was understood.

It also became evident that this is no simple process of puncture and inoculation but that the change of hosts is essential to the development of the blood-parasite, and also that a lapse of time is necessary before the intermediate blood-sucking host becomes infectious. This explains why Finlay's experiments could not furnish convincing proof of the transmission of yellow-fever by mosquitos. He did not know that a period of from ten to eleven days had to pass between the bite that infects the mosquito and the bite that transmits the disease to a new victim.

At the end of the last century bubonic plague re-appeared in many places and led to the discovery and study of its causal germ which, in this case, is a true bacterium; but the fact that it is usually transmitted by fleas biting rats and men followed only after several years of patient study.

On the whole, one may say that the rôle of blood-sucking insects and arachnids in the spreading of diseases was found out at the end of the last century but that it was only in the beginning of the present one that the investigation of all these blood-sucking, temporary or permanent, parasites was carefully undertaken. The results were most interesting: not only was the number of blood-sucking species discovered and classified much greater than could originally have been expected, but also the diseases transmitted by them alone turned out to be much more numerous than was at first presumed. An enquiry recently undertaken by myself and an assistant, Dr. G. M. de Oliveira Castro, from the Veterinary School in this city, on the diseases of man, domestic and common wild animals transmitted by blood-suckers, published in Portuguese (1), showed the following results: both parasites and transmitters belong to many different classes; the latter range from blood-sucking mammals (bats) and worms (leeches) to arachnids (ticks and mites) and insects (very numerous diptera and less numerous, but quite as important, hemiptera, fleas and lice). Besides many worms (principally Filariinae) and Protozoa they transmit some Schizomycetae and diverse virus-diseases. Altogether the number of parasitical and infectious processes transmitted exclusively, or mainly, by blood-suckers can be estimated between 50 and 100, and their number is continually increasing.

Nowadays it may be said that a blood-sucking animal is the *normal*

way for parasites living in the circulatory system to pass from one individual to another. Every new disease has to be investigated along these lines.

Personally, I have studied the blood-sucking animals of South-America for nearly half a century, and place the number of species at several hundred, of which about 300 Diptera alone. As regards human diseases the common mosquitos (*Culex*, *Stegomyia*, *Anopheles*) and *Phlebotomus* species are the most pernicious, but for animals the ticks and the house-flies (*Tabanidae*) are especially important. The *Tabanidae* are very numerous and their rôle has not been sufficiently investigated as yet.

Zoologists studying insects and arachnids described many blood-sucking species in different countries, as early as the beginning of the nineteenth century. The mosquitos, being more fragile than the Tabanids, were not so easy to preserve and this led to a great deal of synonymy.

In 1926 there appeared an extensive report on the transmission of dengue by *Stegomyia aegypti*. This mosquito, which transmits yellow-fever, was found also to cause epidemics of dengue, a disease which has practically no mortality; it was used for very numerous experiments on volunteers in Manila, and the results entirely confirmed anterior statements (2).

When the study of the transmission of malaria and yellow-fever was already practically complete and mosquitos had been extensively studied, Blanchard gave a good summary of the arguments in favour of the transmission of leprosy by them (3). In consequence of these and similar considerations, some leprologists began to examine mosquitos which had bitten leprous patients, and in some cases found acid-fast rods in them. Others experimented with the bites of such mosquitos without obtaining convincing results. But it is very easy to see that all those experiments were not well conducted, as I have explained in former publications. Among other reasons, no allowance was made for the time of incubation inside the mosquito.

It is obviously not advisable to experiment on man. There have, however, been observed several rather similar parasitical processes in small birds, rats and water-buffaloes (*Bos bubalus* or carabao), with which experiments could easily be performed, always allowing for a protracted incubation. In these lepra-like infections there are to be found organisms resembling in form, number, and staining reaction, the organism now generally, but erroneously called *Mycobacterium leprae*. Already in 1886 I proposed the generic name of *Coccothrix* for the germs of Leprosy and Tuberculosis, after a careful

study of their forms and staining properties, and this name has undoubted priority-rights (4).

The transmission of leprosy by mosquitos always appealed to me, principally after I observed how common the two house-mosquitos (*Stegomyia aegypti* and *Culex quinquefasciatus*) were in the Hawaiian Island (1889-1891), while other blood-sucking diptera were entirely absent. At that time the knowledge of the rôle of mosquitos as transmitters of diseases was not sufficiently advanced to permit of more than a supposition. In the last 25 years, however, I have, on various occasions, insisted on the probability that domestic mosquitos are the only transmitters of this disease and have given a number of convincing arguments, so that at least in South America no leprologist need be ignorant of them.

In 1936 I summarily reviewed the whole litterature and published an extensive paper on the transmission of leprosy, which appeared in German, and, in a somewhat abridged form, in English and Portuguese (5). The contents were transcribed in French and Italian medical papers and reviews, and copies were distributed among leprologists, so that the idea was sufficiently made known. As on former occasions, I received several supporting opinions[1] and this time found no opposers, so that I may assume that I have sufficiently proved what I have advanced. The main arguments in favour of the transmission of leprosy by mosquitos will be found at length in that publication. In summary they are as follows:

I — Hundreds of imported cases interned in hospitals in Paris, London and Vienna do not produce new infections either among the patients, medical and nursing staff or other persons. Patients infected abroad do not give rise to new foci in countries free from leprosy.

These facts can only be explained by the absence of a transmitter which serves as a link.

II — Many people, infected with leprosy, among them quite a number of patients of mine, have never had direct contact with other lepers. They generally show the first localisations on the parts of the body normally exposed to mosquito bites, such as the face and hands.

Transmitters other than blood-sucking Diptera have to be excluded, because they are just as common in lepra-free countries as in those where leprosy still exists, whether it be increasing or just stationary.

---

[1] Including from Drs. Jesus M. Gomes, from Guindolim, Goa, Portuguese India and Peskcowsky, Director of the Clinical and Experimental Leprosy Station in Krasnodar in charge of the epidemiological work in the territory from Azor to the Black Sea. The latter says his patients come from a zone infested by blood-sucking diptera and that many of them had never seen other lepers.

III — Domestic mosquitos abound in all countries where leprosy is endemic.

In Hawaii, where I worked on leprosy myself, the introduction of mosquitos was followed by the rapid dissemination of leprosy, and the archipelago became one of its most intense foci. The extensive rice and taro cultures undoubtedly provided an excellent habitat for the mosquitos introduced. The same phenomenon probably occurred in all the other Polynesian Islands where mosquitos and leprosy were formerly unknown.

IV — Direct experiments to transmit leprosy by inoculation of human beings and animals have almost constantly given negative results.

This shows that such is not the normal way of transmission.

V — The *Coccothrix* of leprosy and tuberculosis are not always acid-fast. They show granulations either free or strung on filaments. These granulations can pass through filters.

It is quite possible that these granulations will prove to be the really infectious form.

Yet leprologists still fail to realize the urgency of prophylactic measures against mosquitos, though they promise much better results than the treatment of already confirmed cases.

In most countries where leprosy is progressing, or at least not diminishing, sanitary legislation and its enforcement quietly ignore such prophylaxis. It must not be forgotten that mosquitos are not limited to warm countries but are quite prevalent in all places where leprosy is endemic. The name « mosquito » is not used everywhere but, of course, it should be considered to include all blood-sucking Culicidae often known by other names, such as gnats, *cousins* (fr.) etc. which are especially dangerous when they occur inside houses or in the neighbourhood of human habitations.

The study of Culicidae is now so far advanced that most of the important forms have been described and sanitary authorities cannot afford to neglect them as they are an essential factor in Public Hygiene. Where yellow fever, dengue and malaria are prevalent, mosquito-prophylaxis is already understood to be of the utmost importance and practised with great energy.

The same should apply to leprosy. The technique has been extensively elaborated and discussed and need not be explained again.

In conclusion, I limit myself to proposing some absolutely indispensable rules, which ought to be observed even by those who do not admit that the mosquito is the only transmitter of leprosy:

I — In every leper-hospital or settlement there ought to be at least one person appointed to maintain a strict and continuous anti-mosquito prophylaxis. In larger hospitals or settlements, this person ought to be a properly trained entomologist or medical officer. Any mosquito found on the premises must be accurately determined and registered. The result of such observations should be included in every periodical report of the establishment.

II — When patients are admitted they must be questioned on the mosquito conditions in the place where infection probably took place and their indications must be controlled by further reliable investigations. For statistical purposes the localisation of the first cutaneous lesions must be carefully made note of in all cases of leprosy.

III — Feverish patients and those whose disease is rapidly progressing ought to be isolated from the others in special screened wards.

IV — Leper hospitals and settlements should be located in places not likely to be invaded by swamp or wood-mosquitos, though the domestic ones seem by far the most important. The rooms must not offer hiding places or badly lighted corners. Dark wall papers should not be used. Windows and doors must be screened with wire frames which cannot be left open. No human habitations must be allowed in the vicinity unless they are included in the prophylactic arrangements.

V — Before the screens are put up all mosquitos found on the premises must be collected and examined. The whole premises must be daily examined for breeding places of mosquitos; the larvae of the mosquitos bred there must be determined.

VI — It is absolutely essential that in all regions where there is leprosy a careful study of all existing blood sucking diptera and their habits should be officially undertaken in order to direct prophylaxis.

VII — Prophylaxis against mosquitos is justifiable and useful in itself.

VIII — The isolation of lepers as carried out until now, without mosquito-prophylaxis, has not led to the eradication of leprosy, though practised in some places for thousand of years as in China, for instance. A hundred thousand new cases arise each year in the world. To segregate human beings without ensuring the safety of others is not only illogical but unjust.

IX — *When old methods prove insufficient, new methods must be tried.*

EXPERIMENTS INTENDED TO PROVE THE POSSIBILITY OF TRANSMISSION OF LEPROSY BY MOSQUITOS

I propose that experiments be carried out by infecting mosquitos chosen among species that bite readily. The common nocturnal mosquito, *Culex quinquefasciatus*, is the most suspect of transmitting leprosy but is not very fit for experiments as it only bites in the dark. The use of *Stegomyia* is not advisable for various reasons. It is better to use species that bite easily when applied to the skin in tubes covered by gauze or wire-netting, such as the different species of *Mansonia*, *Taeniorhynchus* and *Ianthinosoma*. The easiest to procure is *Culex*, now *Ochlerotatus scapularis* which is abundant in shady gardens.

The experiments should be extensive to different species of the genus *Coccothrix* (1886), a name which has undoubted priority-rights over its synonym *Mycobacterium* (see Bibl. 1). Among these I suggest the different races of the tuberculosis bacillus and the bacillus of Stefansky, which produces a disease in rats, closely allied to leprosy.

Authentic cultures of these species can be obtained.

Various strains of bacilli isolated from leprosy should be experimented with, also, but only after the others mentioned above, especially those of tuberculosis have been tried.

In tuberculosis the more virulent strains should be excluded. The race of Guérin and Calmette may be used, but it is not favourable for experimenting with on laboratory animals. It seems more practical to work with avian or bovine tuberculosis, which lend themselves better to the purpose and are less dangerous to man. This applies also to the bacillus of Stefansky.

For infecting mosquitos these cultures may be mixed with fresh, defibrinated, blood or diluted honey. The mosquitos must be kept alive for some time, preferably in complete darkness, so that the experiments can be repeated and time be allowed for the incubation of the germ in the mosquito. Those which die are used for microscopical examination, after removing their legs which easily become contaminated. The proboscis must be examined separately. The salivary glands and the body can be used for inoculating into animals as well as for microscopical examination. Not only the acid-fast germs but other, similar, forms, should be looked for in both mosquitos and inoculated animals.

The first question to solve is the length of time during which the germs may be found alive in the body of the mosquito. If they do not disappear from the internal organs at once, these may serve for inoculating into animals and for culture attempts, made at intervals.

The mosquitos may be infected by allowing them to suck blood directly from persons or animals having the disease. This method is not very promising, unless applied to typical skin-lesions and may be used chiefly for human leprosy and Stefansky's disease in rats. If the skin is unbroken, contamination of the external parts of the mosquito can be avoided.

In the case of leprosy recent cases should be used and preferably those which are progressing, principally when there is fever, which shows that the germ is circulating in the blood.

Many years ago, I made some experiments, applying mosquitos to leprous nodules, which are always full of acid-fast rods generally agglomerated in zoogloea masses. I did not find acid-fast rods in the mosquitos, but other observers seem to have met with more success. Nowadays I do not consider this negative result of much importance as I believe that though useful for diagnosis, the acid-fast forms are final and hardly infectious phases of the germ.

I would like to point out that in the hyperaemic spots, which I consider to be the first onset of the disease, acid-fast rods are mostly missing and diagnosis has to be made without their help. They may however, be found in the lymphatic glands which correspond to these initial lesions.

I consider it very important to use hyperaemic spots for infection-experiments since, in my opinion, they undoubtedly contain the virus inoculated by the mosquito-bite and are almost always found in parts of the body accessible to them, such as the face, hands and feet. They are very rebellious to local and general treatment and spread in a centrifugal direction, regardless of vascular and nervous structures.

Although as a rule tuberculosis is not transmitted by blood-sucking parasites, there is a form which is probably due to the bite of diptera. This is *Lupus vulgaris* also generally localised on the face and more rarely on the hands. I believe that most cases are of bovine origin, which explains the relatively mild nature of this essentially chronic disease.

There are also non-acid-fast forms of the tuberculosis germs, such as the fungoid granulations of tubercular joint-diseases.

I have often examined the urine of patients suspect of having renal tuberculosis without encountering acid-fast germs. The inoculation of small quantities of the deposit obtained by centrifugation into the groin of a guinea-pig produced swellings of the neighbouring lymphatic gland, which when extirpated, two or three weeks later, showed acid-fast bacilli.

Now as to the laboratory animals fit for these experiments: guinea-

pigs and rabbits can be used for the different forms of tuberculosis, rats for the Stefansky bacillus, monkeys for human leprosy. So as to obtain lesions, at least local ones, bites should be resorted to, either simple or repeated, or triturated mosquitos in small doses be inoculated. They may be washed in alcohol first, or singed, so as to desinfect the outer parts. Appropriate culture-media may be inoculated in the same way.

These experiments must be repeated again and again if positive results are to be obtained. It will be enough, however, to obtain them with one of the germs used in order to demonstrate the possibility of the transmission of *Coccothrix* species by mosquitos.

BIBLIOGRAFIA

PAPERS CITED

(1) Lutz, Adolpho & Oliveira Castro, G. M. de

1936. Considerações sobre a transmissão de doenças por sugadores de sangue. Folha Medica, Rio de Janeiro, 25-VII-36.

(2) Siler, J. F. Milton W. Hall & Parker Hitchens

1926. Dengue. Manila. (Report on the investigations by the U. S. Army Medical Dep. Research Board at the Bureau of Science and at the Sternberg General Hospital in Manila).

(3) Blanchard, R.

1905. Les Moustiques.

(4) Lutz, Adolpho

1886. Zur Morphologie des Microorganismus der Lepra. Monatsch. für pract. Dermatologie. Unna's dermatologische Studien. Heft I. (Résumé: Annales de Dermatologie et Syphiligraphie, **7**: 425-427). (Summary, Carl. Hochsinger: Arch. fuer Dermatol. u. Syphiligr., **18**: 331).

(5) Lutz, Adolpho

1936. Entstehung, Ausbreitung und Bekämpfung der Lepra. Annaes da Academia Brasileira de Sciencias, **8** (2).

1936. A transmissão da Lepra e suas indicações prophylacticas. Reimpresso das Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, **31** (2).

1936. Transmission of leprosy and prophylactic indications. Reprinted from the Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, **31** (2).

Observações a respeito de um foco limitado de Febre Amarela Silvestre no Estado de São Paulo *

pelo

Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão

Chefe de Serviço do Instituto Oswaldo Cruz e chefe de Serviço Especial de Defesa contra a Febre Amarela do Estado de São Paulo

(Com 1 estampa)

O fóco de febre amarela silvestre, na zona de Presidente Vencesláo-Caiuá, se localisou do lado direito da Estrada de Ferro Sorocabana, em colonias e sitios situados de 10 a 30 kilometros daquelas localidades e a cerca de 870 kilometros de S. Paulo, ficando circunscrito até agora, tão somente a esse local. Os inqueritos epidemiologicos feitos apuraram que o fóco começou a dar casos em principios de dezembro de 1937, de um modo um tanto obscuro e sem relação conhecida com qualquer outra localisação da molestia no territorio nacional. No momento em que surgiram os casos acima referidos, os fócos mais proximos de febre amarela silvestre eram no Paraguai, na zona da Mata, em Minas e Estado do Rio, entre Pedro do Rio, Vassouras, Juiz de Fóra, Rio Novo, etc., e Gimirim e Machado no Estado de Minas, todos distantes cerca de mil kilometros da zona de Vencesláo e sem ligações ferroviarias e rodoviarias diretas com esta localidade. Como foi, porém, no municipio de Vencesláo que em 15 de junho de 1937, faleceu o ultimo doente de febre amarela do surto de fins de 1936, a meados de 1937, e por ter sido o inverno pouco frio no municipio é possivel que o virus tivesse permanecido daquela época até o presente momento em mosquitos ou animais silvestres, porquanto nenhum caso humano foi assinalado nos mêses de junho a dezembro de 1937, em São Paulo e em pontos proximos a este Estado.

---

* Recebido para publicação a 30 de Junho de 1939 e dado á publicidade em Dezembro de 1939.

Relatorio apresentado ao Diretor do Serviço Sanitario do Estado de São Paulo, Dr. Sebastião Calazans e ao Diretor do Instituto Oswaldo Cruz, Dr. Antonio Cardoso Fontes, em 28-2-938.

A zona em que se manifestou agora o pequeno surto de febre amarela silvestre tem uma altitude de 400 metros, é pouco acidentada, escassa de agua, sendo raros e pequenos os corregos e riachos existentes nela. E' bastante quente e chuvosa no verão, mas em certos invernos a temperatura baixa bastante e ha fortes geadas que causam grandes prejuizos ás lavouras, sobretudo ao café.

Ela se acha coberta, em grande parte, de matas virgens, nas quais vem sendo feita, de uns 20 anos para cá, intensa exploração agricola e de madeiras. As terras são trabalhadas por grandes e pequenos proprietarios, aqueles possuidores de milhares de alqueires de terra e estes sendo senhores ou arrendatarios de sitios de 5 a 20 alqueires geralmente constituindo colonias de centenas de individuos da mesma nacionalidade. O municipio de Vencesláo é bastante povoado, calculando-se que tenha 22.000 habitantes dos quais 4.000 na séde e 18.000 disseminados na zona rural. A população é trabalhadora, ordeira e constituida na sua maior parte por paulistas, nordestinos, hungaros, russos, alemães, japoneses, paraguaios, etc. Essa gente vive ora em colonias, ora em ranchos e casas toscas disseminadas pela mata, ás vêses a distancias bem grandes umas das outras e dos povoados mais proximos. Existem na região varias serrarias, fazendas de engorda de gado, numerosas plantações de café, mas o que domina na atividade humana local, são as culturas de algodão, milho, feijão, arroz, mamona e outras de menor importancia. As terras são boas para as culturas anuas acima e menos apropriadas ao café por serem um tanto secas e arenosas.

As matas da região são ricas de madeiras, sobretudo a peroba e o ipê, havendo tambem cedros mas em menor quantidade. Elas são bastante sujas e dificeis de penetrar, muito pobres de bambús, taquaras, de bromeliaceas epiphitas e terrestres, já se encontrando porém nelas algumas cactaceas de grande porte.

O terreno é ligeiramente ondeado, entremeado de planicies, escasso de agua, recorrendo os habitantes a poços e cacimbas que cavam de 30 a 70 palmos no sólo, para obter o liquido que necessitam para seus usos caseiros. E' raro o sitio que não possue sua cacimba, havendo zonas de kilometros quadrados sem uma unica fonte ao que nos informaram. Esta escassez de agua não impede no entanto que os mosquitos, espe-

cialmente o *Aedes scapularis*, sejam muito abundantes em todas as matas que percorremos, nas quais, no entanto, não encontramos nenhum fóco larvario desta especie, quer nas cacimbas, fontes, riachos, quer na pequena quantidade de agua que se acumula entre as folhas dos ananazes selvagens que são as bromeliaceas mais comuns no local. Temos a impressão de que esses mosquitos vêm de longe ou se criam em pontos ainda não determinados com segurança.

Tanto quanto pudemos apurar, o fóco de febre amarela silvestre de Vencesláo-Caiuá começou a dar casos a partir da primeira quinzena de dezembro de 1937, não tendo havido este ano, a precedencia da mortalidade de bugios e guaribas sobre o aparecimento dos casos humanos, como habitualmente ocorre nos fócos de febre amarela silvestre. E' possivel que esses animais tivessem ficado imunes devido aos surtos anteriores de febre amarela na zona.

E' para assinalar que o ultimo caso de febre amarela silvestre em São Paulo ocorreu em 27 de maio de 1937, justamente na zona de Vencesláo, vindo o doente a morrer a 7 de junho. Os casos observados agora no fóco em apreço, de acordo com os inqueritos e indagações que fizemos pessoalmente e os dados epidemiologicos anteriormente obtidos pelos drs. Tito Lopes e Idt Pontes, medicos do Serviço de F. A., atingem ao numero de 21 com 1 obitos incluindo todos que apuramos desde os mais benignos até os mais graves, no periodo decorrido de principios de dezembro de 1937 a 8 de fevereiro deste ano. Desta data em diante até agora, 28 de fevereiro, não temos tido informação da ocorrencia de qualquer outro caso no local.

E' a seguinte a lista das pessoas que tiveram febre amarela silvestre diagnosticada pelos exames clinicos, pelos inqueritos epidemiologicos, pelas inoculações de sangue em camondongos brancos e macacos rhesus, e pelo exame do figado. Ulteriormente serão feitas provas de proteção para obter melhor confirmação dos dados aqui apresentados especialmente em relação aos casos que evoluiram com extrema benignidade e os que não puderam ser diretamente observados pelos medicos do Serviço Especial de Defesa contra a Febre Amarela ou pelos clinicos locais de modo completo.

Casos de Febre Amarela observados pelos medicos do Serviço de Febre Amarela, ou pelos clinicos locais de modo mais ou menos completo

Data	Mês	N.	Nome	Nacionalidade	Côr	Idade	Profissão	Local
14	Dez.	1	Manoel Ramalho	português	branco	25 anos	lavrador	Faz. Ribeirão Bandeirantes
18	Dez.	2	José de Oliveira [1]	português	branco	29 anos	serrador	Faz. Ribeirão Bandeirantes
—	Dez.	3	José Gabriel [1]	brasileiro	pardo	30 anos	lavrador	Faz. Ribeirão Bandeirantes
25	Dez.	4	José Silva [2]	português	branco	42 anos	lavrador	Faz. Ribeirão Bandeirantes
7	Jan	5	Manoel de Oliveira Mendes	brasileiro	branco	17 anos	aj. mot.	Agua Sumida
3	Jan.	6	José Bertoli	brasileiro	branco	23 anos	serrador	Faz. Ribeirão Bandeirantes
14	Jan.	7	Manoel Gomes [3]	brasileiro	branco	13 anos	lavrador	Faz. Ribeirão Bandeirantes
9	Jan.	8	Luzia Gomes [3]	brasileira	branca	8 anos		Faz. Ribeirão Bandeirantes
14	Jan.	9	Benedita Gomes [3]	brasileira	branca	6 anos		Faz. Ribeirão Bandeirantes
—	Jan.	10	José Mariano [4]	brasileiro	pardo	11 anos		Colonia Nordestina
—	Jan.	11	Isaias Mariano [4]	brasileiro	pardo	10 anos		Colonia Nordestina
—	Jan.	12	Mozart Mariano [4]	brasileiro	pardo	6 anos		Colonia Nordestina
23	Dez.	13	Nascimento Gomes	brasileiro	pardo	42 anos	serrador	Bôa Vista
15	Jan.	14	Custodio Ximenes [5]	paraguaio	pardo	25 anos	lavrador	Bôa Vista
15	Jan.	15	Tomaz del Valis [5]	paragu aio	pardo	43 anos	lavrador	Bôa Vista
—	Jan.	16	Sebastião Vitorio	brasileiro	branco		lavrador	Mata Caiuá
—	Jan.	17	João Geraldo	brasileiro	branco		lavrador	Mata Caiuá
—	Jan.	18	Elói Cosaca	brasileiro	branco	13 anos	lavrador	Mata do Veado
22	Jan.	19	Antonio Ferrari	brasileiro	branco	25 anos	lavrador	Mata do Veado
16	Jan.	20	Ludwig Bresler	alemão	branco	45 anos	lavrador	Mata do Veado
8	Fev.	21	Sebastião Rodrigues [6]	brasileiro	branco		aj. mot.	Serraria Aimorés

[1] Companheiros de casa — Manoel Ramalho e José de Oliveira faleceram

[2] Faleceu em 28—12—37 — figado positivo para febre amarela

[3] Irmãos, moradores na mesma casa a 20 metros da casa de Manoel Ramalho e seus companheiros

[4] Irmãos, moradores na mesma casa

[5] Custodio Ximenes e Tomaz del Valis moravam em ranchos proximos num sitio no interior da mata da Bôa Vista

[6] Faleceu em 17—2—38, - figado positivo

Todos estes casos ocorreram na zona situada á margem direita da Estrada de Ferro Sorocabana em sitios e colonias distando 10 a 30 kilometros dessas localidades em pessoas que tinham residencia no local ou que aí foram e demoraram algum tempo como é o caso do ajudante de chaufeur Manoel de Oliveira Mendes que, surpreendido por forte aguaceiro, pernoitou no sitio de Agua Sumida e uma semana depois apresentou-se doente evoluindo sua molestia de modo tipico, embora sem gravidade.

Não tivemos informação de outros casos na zona de Presidente Vencesláo-Caiuá, nem pudemos observar nem ter noticia de quaisquer outros ocorridos nas proximidades, desde Presidente Prudente até Porto Epitacio, na barranca do Rio Paraná.

De todos os dados que pudemos apurar pela visita ao local, pelos inqueritos feitos pelos drs. Idt Pontes e Tito Lopes, pelas informações dos medicos da localidade drs. Mendes Ribeiro, Azevedo Passos, Pereira Barreto e Vieira de Morais e informações de pessoas dignas de fé chegamos á conclusão de se tratar de um fóco muito limitado e que foi surpreendido ainda no começo de sua manifestação. Ele deve ter se iniciado nos primeiros dias de dezembro e já a 25 do mesmo mês tinhamos conhecimento e confirmação dele, pelos casos de João Ramalho e José Silva, este com exame do figado positivo. Até 8 de fevereiro o fóco se manteve com o mesmo aspecto e localisação dando os 21 casos acima referidos e de então para cá até 28 de fevereiro nenhum caso novo foi registrado, tendo sido feitas 8099 vacinações contra a F. A. nele de 11 a 28 de janeiro deste ano.

Por considerarmos a zona suscetivel de dar casos de Febre Amarela este ano, na estação estival, por ter havido pouco frio e ausencia de de geada, no inverno de 1937, tinhamos determinado o estabelecimento de 15 postos de viscerotomia ao longo da Sorocabana, de Porto Epitacio a Salto Grande, em dezembro passado. Tais postos foram instalados pelo dr. Tito Lopes, de 15 a 25 de dezembro, nas seguintes localidades: Porto Tibiriçá, Presidente Epitacio, Caiuá, Presidente Vencesláo, Santo Anastacio, Presidente Bernardes, Presidente Prudente, Regente Feijó, Rancharia, Quatá, Sapezal, Paraguassú, Assis, Palmital e Salto Grande.

Graças á providencia da instalação desses postos o fóco foi conhecido com segurança desde seu inicio, pois o primeiro figado positivo foi colhido a 28-12-37, em José Silva, pelo dr. Mendes Ribeiro, medico encarregado do posto de Viscerotomia de Presidente Vencesláo. Ficou assim mais uma vez evidenciado o valor dos postos de Viscerotomia para a confirmação segura da existencia de fócos de febre amarela.

Logo que tivemos o primeiro aviso da existencia de casos de febre

amarela em Vencesláo, determinamos a ida ao local do dr. Idt Pontes, Chefe do sector de Botucatú, ao qual está aféta a zona em apreço e do dr. Tito Lopes, Chefe do Serviço de Viscerotomia para fazerem os necessarios inqueritos e observações. Uma vez confirmado o surto clinicamente e pelo exame histo-patologico resolvemos ir ao local, para estudar o fóco e aplicar as medidas necessarias ao seu debelamento.

Entre os meios indicados para isso cogitamos logo da vacinação em larga escala dos habitantes da zona, medida sobretudo no caso por se tratar de um fóco localisado tanto quanto era possivel apreciar. Tendo exposto ao Exmo. Sr. Secretario da Educação Dr. F. Salles Gomes e ao Exmo. Sr. Diretor do Serviço Sanitario Dr. Sebastião Calazans, o nosso intento, partimos para o Rio de Janeiro onde nos entendemos a respeito com o dr. D. B. Wilson, então á testa da Fundação Rockefeller, o qual poz logo gentilmente á nossa disposição cerca de 10 mil dóses de vacina anti-amarilica feita com cultura de virus atenuado, em embrião de galinha, e tambem um dos medicos dessa Fundação, especializado no serviço de vacinações no Sul de Minas onde já tinham sido imunizadas 10 mil pessoas, com bons resultados.

Ficou estabelecido que as vacinações seriam feitas nos pontos que indicassemos e julgassemos util o seu emprego para conseguir o resultado profilatico almejado.

Resolvido esse ponto do nosso programa de combate ao fóco de Vencesláo, voltamos a São Paulo e em 12 de janeiro partimos para Presidente Vencesláo em companhia do dr. Antonio Ulhôa Cintra, especialmente convidado para estudar clinicamente o mal reinante, do dr. Julio Paternostro posto á nossa disposição e pela Fundação Rockefeller, para proceder as vacinações juntamente com os drs. Tito Lopes, Idt Pontes e Yalmo de Morais, do nosso Serviço, e ainda o entomologista da Inspetoria de Malaria, sr. Alberto Ramos, um auxiliar de entomologista e 2 auxiliares de escrita. Levamos tambem conosco a vacina anti-amarilica e todo o material necessario não só para sua aplicação, como para os estudos que iamos realizar e ainda 250 camondongos, 6 macacos rhesus e uma duzia de cobaias.

Viajamos confortavelmente em um vagon de administração especial da Sorocabana gentilmente posto á nossa disposição pela Diretoria dessa Estrada, que além disso tudo facilitou para o bom êxito da nossa missão.

Em Presidente Vencesláo, de acordo com as informações do dr. Idt Pontes, as do distinto corpo medico local e as de particulares, verificamos que, como esperavamos, o surto de febre amarela silvestre, estava bem localisado na zona anteriormente mencionada e até então só tinha dado

um numero restrito de casos. Todos os doentes observados provinham das matas, não havendo nenhum caso urbano em Vencesláo cujo indice stegomico atual é baixo, achando-se a povoação numa região em que a mata já se encontra somente a 2,5 a 3 kilometros de distancia.

Ao primeiro contacto com as autoridades de Vencesláo, com os medicos e o povo da localidade tivemos a impressão de que a vacina seria muito bem aceita, pois todos estavam anciosos pela aplicação desse meio profilatico eficaz, inocuo e de resultados seguros. Em vista disso e conhecida a localisação dos casos havidos até então, resolvemos dar inicio ao serviço de imunização da população do municipio de Presidente Vencesláo que habita a zona á direita da linha da Sorocabana entre a Séde do municipio e a margem do rio Paraná. O resto do municipio não nos interessou no momento porquanto em nenhum ponto dele se tinham verificado até então, casos de febre amarela. Tambem fizemos de preferencia vacinações na zona rural porque só tinha havido casos nela. Com o fim de propaganda da vacina e para atender a instantes pedidos foram tambem vacinadas pessoas nas vilas de Presidente Vencesláo e Piquerobí.

Para facilidade do serviço e para que ele corresse como convinha, o mais depressa possivel, estabelecemos que as vacinações seriam feitas em locais préviamente determinados, onde fosse possivel reunir o maior numero de habitantes rurais. O serviço de vacinações começou pela fazenda de Santa Sofia, nas proximidades de Presidente Vencesláo e se extendeu sucessiva e rapidamente a Porto Tibiriçá, ás colonias Alemã, Hungara, Russa, a do Veado, Nordestina, as 3 colonias Japonesas de Pederneiras, e as serrarias Aimorés, Terencio, Petraroli, etc. Por toda a parte a vacinação teve a mesma boa aceitação quer por parte da população, quer por parte dos donos das serrarias, chefes de colonias, fazendeiros, etc., de modo que sua aplicação não encontrou dificuldade alguma o que bem evidencia quanto o povo já vai confiando na ação dos serviços sanitarios, em seu beneficio.

Assim, graças ás facilidades encontradas e á organisação do serviço, vacinando ora pela manhã, ora pela tarde, sempre que possivel e as estradas, os caminhos e o tempo o permitiam, o trabalho ficou terminado em 15 dias. O minimo de vacinações feitas num desses pontos foi de 77 e o maximo de 1142. Não houve dificuldade em realisa-las em caso algum, pois todos desejavam se imunizar e a vacina foi feita sem distinção em homens, mulheres e nas crianças de dous anos para cima. Todas as pessoas vacinadas foram fichadas de modo a se poder, em qualquer tempo, observar o resultado da vacinação, as possiveis reações individuais ou qualquer outro elemento de apreciação da sua ação. A

vacina usada é constituida por um virus amarilico atenuado por cultura em embrião de galinha e que é conservado, sêco e a zero, em grandes garrafas thermos cheias de gelo até o momento de seu uso, quando então é diluido uma 1.ª vez em agua distilada de acordo com a dosagem da sua atividade e depois ainda uma outra vez em agua fisiologica no momento da injeção. A dose finalmente usada por pessoa é de 0,25 cc. da 2.ª diluição do virus. Durante e após uma série de vacinações a vitalidade e a virulencia da vacina são controladas em camondongos.

A vacina é aplicada uma só vês, não dóe e por isso tem facil aceitação mesmo por parte das crianças. Não ha reação imediata e as tardias são excepcionais; raramente ha febre ou estado nauseoso e circulação de virus. Dentre os 8 mil e tantos vacinados de Presidente Vencesláo, rarissimos foram os que se queixaram de algum mal estar. A imunisação pela vacina é constatada pela prova de proteção positiva que as pessoas submetidas a ela, apresentam 15 dias depois e deve ser duradoura por anos pelo que se sabe das infecções amarilicas ligeiras que tão bem garantem um individuo contra um segundo ataque da molestia. As vacinações feitas em 23 localidades do municipio de Presidente Vencesláo atingiram ao numero de 8099, e devido á organisação que foi dada ao serviço, a sua bôa aceitação pela população e a dedicação e esforços dos que ficaram incumbidos de realiza-las, puderam ficar concluidos em 15 dias, quando pelos calculos prévios e de acordo com os trabalhos anteriores em outras zonas do país, se orçava por seis semanas o tempo necessario para leva-las a cabo.

O resultado das vacinações anti-amarilicas no municipio de Presidente Vencesláo, foi o melhor possivel. Todos os vacinados continuaram nos seus afazeres habituais em casa, nas lavouras, nas serrarias, e nas matas, sem reações dignas de nota e salvo rarissimos casos de reaçã ofebril passageira, máo estar e nauseas, 8 a 12 dias após a vacinação, nada mais foi assinalado. Na vila de Presidente Vencesláo, onde houve mais de 2 mil vacinações, os 4 medicos locais e os do Serviço de Febre Amarela nada observaram de anormal em tão numeroso grupo de imunizados, o que demonstra a inocuidade da vacina aplicada em individuos desde dous anos para cima e de raças e constituições diferentes

Durante o serviço de vacinação ocorreram no municipio de Vencesláo dous casos de febre amarela silvestre em duas pessoas não vacinadas, Antonio Ferrari e Ludwig Bresler. Depois de terminadas as vacinações ocorreu ainda um caso, em 8 de fevereiro, na serraria Aimorés, em Sebastião Rodrigues, ajudante de motorista, que por não estar presente escapou á vacinação feita nessa serraria em 18 janeiro. De então

para cá, até 28 de fevereiro, nenhum caso de febre amarela foi observado no municipio de Presidente Vencesláo.

No quadro abaixo apresentamos os dados referentes ás localidades, dias e numero de vacinações feitas no municipio de Presidente Vencesláo, de 14 a 28 de janeiro de 1938.

Quadro 2

MUNICIPIO	LOCALIDADE	DATA	No. DE PESSOAS VACINADAS	
Presidente. Vencesláo	Fazenda Santa Sofia	14–1		460
« «	Serra Madeiral	15–1		291
« «	Caiuá	16–1	396	
« «	Caiuá	27–1	126	522
« «	Colonia Arpad	16–1		
« «	Presidente Epitacio	17–1		
« «	Porto Tibiriçá	17–1		
« «	Serrar. Aimorés	18–1		
« «	Agua Colonia	18–1		
« «	Presidente Vencesláo	19–1	1142	
« «	Prestdente Vencesláo	27–1	1032	2174
« «	Ribeirão Veado	20–1		260
« «	Perobal	22–1		168
« «	Veado	22–1		164
« «	Bôa Vista	22–1		179
« «	Fazenda Santa Clara	23–1		262
« «	Fazenda Santa Clotilde	23–1		223
« «	Colonia Veado	24–1		77
« «	Lagôa Seca	24–1		425
« «	Ribeirão Claro	25–1		113
« «	Segunda Pederneiras	25–1		367
« «	Primeira Pederneiras	25–1		143
Sto. Anastacio	Piquerobí	28–1		315
				8 099

Enquanto se processava o serviço de vacinação que tinha logar todos os dias, inclusive domingos, das 9 horas da manhã ás 6 da tarde, os medicos que não estavam diretamente afétos a êle se ocupavam de pesquisas clinicas, epidemiologicas, entomologicas, visitas aos fócos da molestia, isolamento de virus, etc., embora esses serviços fossem ás vêses bastante penosos devido ás distancias de 20 a 40 kilometros a percorrer por estradas quasi sempre pessimas e intransitaveis nesta época de chuvas estivais. Algumas vêses foi necessario recorrer a caminhões para poder atingir a casa do doente ou o ponto de vacinação ou então fazer acompanhar o automovel de um caminhão para socorre-lo nos atoleiros da estrada.

Apezar de tudo o serviço correu normalmente, não sendo preju-

dicadas as vacinações, os inqueritos epidemiologicos, as observações clinicas dos doentes no local de infecção, as capturas de mosquitos, nem as colheitas de sangue para inoculações ou qualquer outro trabalho que foi necessario realizar.

Muitas vêses o serviço se estendeu pela noite porque só depois da chegada da mata é que se podia examinar o material, fazer inoculações, etc.

Durante o tempo que os medicos do Serviço de F. A. estiveram em Vencesláo foram observados 6 casos de febre amarela ainda em evolução clinica, nas pessoas de Manoel de Oliveira Mendes, Manoel Gomes, Custodio Ximenes, Tomaz del Valis, Antonio Ferrari e Ludwig Bresler, casos estes que evoluiram para a cura, sendo o mais grave dêles o de Tomaz del Valis, que pelos sintomas gerais, albuminuria, cilindruria, ictericia, grande prostação, soluços, chegou a ter um prognostico máo, mas que em seguida se modificou, evoluindo tambem para a cura.

Os demais casos evoluiram tipicamente, mas de fórma benigna, como se verifica pelas observações feitas. Anteriormente á nossa chegada tinha havido 3 casos fatais; os de Manoel Ramalho, José de Oliveira e José Silva e alguns mais ou menos graves. Dos 6 casos acima, dous, o de Manoel Gomes e Antonio Ferrari foram encontrados no 2.º dia da molestia e dous do 2.º para o 3.º dia da doença, o de Custodio Ximenes e Tomaz del Valis. O sangue destes doentes foi por isso inoculado em camondongos, por via cerebral, e o de Manoel Gomes tambem em macaco rhesus. O sangue de uma doente Lina Carvalho no 2.º dia de uma doença febril que evoluiu como gripe, nenhuma reação produziu em 6 camondongos inoculados com êle por via cerebral.

O resultado das inoculações de sangue dos quatro doentes foi o seguinte:

Doente Manoel Gomes; o sangue deste foi colhido com venula no 2.º dia da molestia na Fazenda Bandeirantes em 15-1-38, ás 2 horas da tarde e inoculado ás 10 horas da noite do mesmo dia em 6 camondongos que foram trazidos para São Paulo no dia 20-1-38, aqui chegando a 21-1-38.

Estes camondongos começaram a apresentar paralisia a partir de 25-1-38 e a morrer do dia 26 em diante. Foi feita a passagem do virus destes camondongos para outros, já se estando agora na 3.ª passagem do material.

O macaco 1V inoculado com um centimetro cubico de sangue de Manoel Gomes, em Presidente Vencesláo, no dia 15-1-38, ás 10 horas da noite, apresentou temperatura de 40º no dia 20-1-38 ás 2 horas da

tarde. seu sangue foi então colhido numa veia, desfibrinado e trazido para São Paulo, onde chegou a 21-1-38, ás 5 1/2 da tarde, sendo inoculado, ás 6 horas desse dia, no Instituto Bacteriologico, no rhesus 1 V. O rhesus 4 V, que ficou em Presidente Venceslão, amanheceu morto na gaiola no dia 24-1-38, apresentando ictericia, figado aumentado e amarelo, baço pouco alterado, rins aumentados e hemorragia no estomago segundo os informes do dr. Julio Paternostro, que gentilmente se prestou a autopsia-lo na nossa ausencia. O exame histo-patologico do figado deste rhesus revelou grande dissociação do tecido hepatico e necroses segundo observaram os drs. João Montenegro e Augusto Taunay, lesões estas que são comuns nos macacos com febre amarela, nos quais muitas vêses falta o aspecto classico da lesão amarilica do homem.

Como veremos adiante outros macacos inoculados com sangue deste, vieram a apresentar lesões tipicas confirmando a natureza do mal que vitimara o rhesus 1 V.

O macaco rhesus 1 V inoculado com sangue do rhesus 1 V por via subcutanea no dia 21-1-38 teve febre a partir de 26-1-38, atingindo ela a 40,3 no dia 28. No dia 29 a temperatura do animal caiu a 38 e no dia 30 êle amanheceu morto. Foi autopsiado, apresentando figado amarelo e aumentado e o baço e rins igualmente crescidos. O exame histo-patologico do figado apresentou-se bastante semelhante ao do rhesus anterior, isto é, com dissociação celular e as necroses habituais.

O sangue do rhesus 4 V foi inoculado no 1.º dia da febre em 26-1-38, por via venosa, no rhesus 5 v e apresentando este animal febre de 40º no dia 29-1-38, foi sangrado, sendo seu sangue inoculado por via venosa no rhesus 8 V que por sua vês, apresentou febre de 40º no dia 2-2-38, e amanheceu morto a 3-2-38. O rhesus 8 foi autopsiado, apresentando o figado grande e amarelo e aumentado o baço e rins, como em geral nas infecções amarilicas. As lesões histo-patologicas do figado deste rhesus apresentaram-se absolutamente tipicas conforme verificaram os drs. João Montenegro e Augusto Taunay.

O sangue do rhesus 8 V foi inoculado no dia 2-2-38, no rhesus 9 V por via subcutanea. Este macaco apresentou temperatura de 40º no dia 7-2-38, e foi sangrado para passagem do virus. Depois sua temperatura se normalisou e êle não morreu. O rhesus 10 v inoculado no dia 8-2-38 com o sangue do rhesus 9 V teve febre no dia 12 e foi sangrado, vindo este macaco a curar depois de diversas reações febris.

Por sua vês o sangue do rhesus 10 V foi injectado por via venosa no rhesus 11 V no dia 13-2-38. Este animal apresentou febre de 40º no dia 16-2-38, sendo sangrado nesse dia. Em seguida este animal teve baixas e altas de temperatura até 40º,5, e por varios dias, e afinal

morreu a 21-2-38, apresentando a autopsia lesões macro e microscopicas tipicas de febre amarela. O rhesus 12 V inoculado com sangue do rhesus 11 V colhido no 1.º dia de febre, apresentou temperatura de 40º no dia 20, quando foi sangrado, depois sua temperatura caiu até 38,5 no dia 22 para se elevar a 41º no dia 21 pela manhã e á tarde desse dia o animal estava moribundo, com 36º e foi sacrificado.

Foi feita autopsia deste animal que apresentou lesões macroscopicas e histo-patologicas tipicas de febre amarela, conforme o verificaram os drs. João Montenegro e Augusto Taunay no Instituto Bacteriologico, no qual funciona a Secção de Anatomia patologica do Serviço de Febre Amarela. O virus da febre amarela proveniente do sangue de Manoel Gomes, inoculado em macaco rhesus no dia 21-1-38, se acha portanto atualmente na sua 8.ª passagem em animal e dando nos rhesus que sucumbem á infecção por êle produzida, lesões tipicas de febre amarela. As passagens desse virus vão continuar e êle já tem sido sêco e conservado para diversas pesquizas em curso no Instituto Bacteriologico.

Doente Custodio Ximenes; o sangue deste doente foi colhido com venula, ás 9 horas da noite, no dia 17-1-38, estando o doente no 2.º para o 3.º dia da molestia, em Presidente Vencesláo, para onde êle tinha vindo em busca de tratamento. Foi inoculado nesse mesmo dia ás 22 horas em 6 camondongos brancos por via intra-cerebral, sendo estes animais trazidos para São Paulo no dia 20-1-38, aqui chegando a 21-1-38.

Os camondongos deste grupo começaram a apresentar paralisia no dia 27. A passagem do virus destes camondongos para outros foi feita a partir desse dia, estando-se atualmente na terceira transferencia de material de animal a animal.

Doente Tomaz del Valis; o sangue deste doente foi colhido com venula no 2.º para o 3.º dia da molestia em Presidente Vencesláo, para onde êle tinha vindo para se tratar no dia 17-1-38, ás 21 horas da noite. Foram inoculados com ele nesse dia ás 22 horas 6 camondongos por via intra-cerebral. Os animais foram trazidos para São Paulo no dia 21-1-38 e colocados no bioterio da Secção de Febre Amarela do Instituto Bacteriologico. Só a 30-1-38, começaram a se apresentar paraliticos os camondongos deste grupo, sendo então sacrificados, injectando-se emulsões do seu cerebro em outros camondongos que estão em observação.

Doente Antonio Ferrari; o sangue deste doente foi colhido a 23-1-38, com venula no 2.º dia da molestia em Presidente Vencesláo para onde o doente tinha vindo, pelos drs. Tito Lopes e J. Paternostro. Foram inoculados com êle nesse dia, por via cerebral, 6 camondongos que foram trazidos para São Paulo no dia 29-1-38, sendo colocados no Bioterio da

Secção de F. A. no Instituto Bacteriologico. A 31-1-38, apresentou paralisia o primeiro camondongo deste grupo, sendo seu cerebro inoculado em outros camondongos que no dia 10 começaram a apresentar-se novamente paraliticos, sendo inoculadas emulsões do cerebro desses animais em outros camondongos com o fim de manter o virus.

Além das inoculações do sangue dos 4 doentes anteriormente referidos, nos foi possivel no decorrer dos trabalhos pesquizar tambem a sensibilidade dos nossos bugios (Alouata) ao virus da febre amarela silvestre como a seguir vamos referir.

Tivemos ocasião de obter em Presidente Epitacio e em Presidente Vencesláo dous bugios, sendo o primeiro um filhote de cerca de 3 mêses da especie *Alouata rufus* e o segundo um animal adulto, totalmente preto da especie *Alouata caraya*. Seu dono o tinha em cativeiro ha dous anos; alimentando-o com bananas e pão. Era bastante manso, mas muito forte e dificil de manejar, não podendo ser agarrado por uma só pessoa como acontece com os macacos rhesus. Trouxemos esses dous bugios para São Paulo onde chegamos no dia 21 de janeiro. Nesse mesmo dia ás 6 horas da tarde inoculamos no filhote de bugio, por via peritoneal, 0,3 cc. de sangue do rhesus 1 v que colheramos na vespera em Presidente Vencesláo, quando o animal apresentou 40º de temperatura e mantiveramos durante a viagem em garrafas thermos com gelo

Com identica quantidade de sangue inoculamos um rhesus 4 V ao qual anteriormente nos referimos. A temperatura do filhote do bugio 1 V era no dia da inoculação de 37,2, no dia 22 foi de 36º, no dia 22, 37, no dia 23, 37,5, no dia 24, 39, no dia 25, 37 e no dia 26-1-38, o macaquinho amanheceu morto, sendo autopsiado pelo dr. A. Taunay que encontrou o figado grande, injetado, um pouco pálido em certos pontos, o baço e os rins pouco aumentados, ausencia de ictericias e hemorragias no estomago. O exame histo-patologico do figado revelou a existencia de dissociação celular do tecido hepatico e necroses pouco tipicas, sendo de notar que as lesões dos rhesus 1 V e 4 V que morreram em consequencia da inoculação do mesmo virus tambem não foram bastante caracteristicas, embora êles tivessem morrido de febre amarela como as passagens ulteriores do virus em outros rhesus vieram demonstrar.

Uma emulsão de figado deste bugio foi inoculada no rhesus 6 V que apresentou diversas reações febris até 40º mas não morreu, devendo ser verificada ulteriormente sua imunidade para o virus da febre amarela. O segundo bugio (bugio 2 V), animal adulto e preto, desde que chegou a São Paulo começou a ficar triste e a recusar alimento, o que é comum nesses animais, logo depois de caçados ou quando mudados de ambiente, chegando a morrer muitos deles. Receando que este animal

viesse a sucumbir como já acontecera a outro que fôra enviado anteriormente, ao Instituto Bacteriologico, onde não chegou a viver 15 dias, nós o inoculamos, por via venosa, no dia 25-1-38, pela manhã com sangue do rhesus 4 V, colhido em pleno periodo de reação febril. O bugio continuou sempre triste e a recusar os alimentos. Ele apresentou temperatura de 39 no momento da inoculação a 25-1-38; no dia 26 sua temperatura foi de 38,5; a 27-1-38, ela se elevou a 39,3, e no dia 28 o animal amanheceu morto. A autopsia feita pelo dr. A. Taunay revelou um figado muito grande, cheio de sangue e tambem baço e rins crescidos, demonstrando o exame histo-patologico do figado, dissociação celular e necroses semelhantes ás que apresentou o filhote de bugio n.º 1 V. Por elas não se pode afirmar que este segundo bugio tambem tivesse morrido de febre amarela, mas é preciso acentuar ainda uma vez, que mesmo os rhesus nem sempre apresentam lesões tipicas ás primeiras passagens do virus como foi o caso dos rhesus 1 V e 4 V que inoculados com virus amarilico de Manoel Gomes, morreram com lesões pouco tipicas, mas nas demais passagens do mesmo virus elas se tornaram absolutamente caracteristicas.

O sangue deste bugio foi inoculado, por via subcutanea em um rhesus (7 V) e por via cerebral em 6 camondongos. O rhesus 7 V teve diversas reações febris entre 39,8 e 40°, mas não morreu, devendo ser ulteriormente verificada a sua imunidade para a febre amarela, mas os 6 camondongos vieram a sucumbir com paralisia decorridos 15 dias após a inoculação do sangue do bugio 2 V, e com o cerebro deles foram inoculados outros camondongos que tambem já morreram.

Estas experiencias com bugios que não puderam ser continuadas por falta de material apropriado, estão a assinalar uma certa sensibilidade destes macacos ao virus da febre amarela silvestre, mas ainda não são suficientes para trazer a completa confirmação da constante referencia relativa á morte desses simios nas zonas em que grassa a febre amarela silvestre, havendo em geral uma precedencia de 20 dias entre a morte deles e o aparecimento dos casos humanos. Nos lugares em que reina pela primeira vês febre amarela silvestre e onde ha bugios já têm sido vistos estes animais doentes nas arvores e é comum o encontro de bugios mortos intactos ou comidos por carnivoros ou suas ossadas nas matas. Os bugios que não morrem nas matas em consequencia da febre amarela silvestre ficam amoitados e não são vistos nelas por muito tempo. Depois de mêses porém reaparecem e volta-se a ouvir os seus gritos caracteristicos quando reunidos em bandos.

Além das pesquizas de isolamento de virus pela inoculação de sangue de doentes e de emulsões de mosquitos em camondongos e ma-

cacos, foi objeto de investigações especiais nas matas de Presidente Venceslão, a sua fauna entomologica e sobretudo a de culicidios, serviço este que esteve afêto ao sr. Alberto Ramos, entomologista da Inspetoria de Impaludismo, ora tambem cooperando com o Serviço de Febre Amarela. As pesquizas foram realizadas especialmente nas matas proximas aos sitios da Bôa Vista e Bandeirantes. onde tinha havido casos de febre amarela e tambem em outras matas como as da fazenda Santa Sofia, Caiuá, Presidente Epitacio, etc. Nas matas proximas aos fócos da molestia as capturas visaram os mosquitos em geral e especialmente a descoberta de insétos que já tivessem sugado sangue anteriormente, na vegetação dos logares humidos e abrigados onde êles se acolhem de preferencia.

Os mosquitos que já sugaram uma vês são facilmente reconheciveis por terem o abdomen dilatado por sangue ou pelo desenvolvimento dos ovos e por possuirem muito menos escamas do que os insétos novos, pois com o decorrer do tempo elas vão caindo: Nas matas do municipio de Presidente Venceslão não falhou a regra geral de que os mosquitos que vêm picar espontaneamente o homem durante o dia são sempre mosquitos novos que se reconhecem pelo abdomen vasio e pelas escamas intactas, como temos sempre observado e vem sendo cada vês mais confirmado por aqueles que têm trabalhado ultimamente conosco.

Apezar de serem os culicidios extremamente abundantes nas matas da região, nunca os que fizeram capturas deles tiveram ocasião de apanhar durante o dia um unico exemplar que, já tendo sugado, os viesse atacar espontaneamente. Quando durante o dia se quer apanhar mosquitos que já sugaram é necessario ir procura-los na vegetação baixa que cresce nos logares humidos da mata, pois aí é que se vão abrigar tais insétos que são reconhecidos logo pelo seu vôo lento quando se os faz sair das plantas em que estão pousados, pela dilatação do seu abdomen, pelos ovos crescidos e pela falta de escamas em muitas partes do corpo como acima já deixámos assinalado.

Nada ha de extranhavel no fato de não procurarem de novo sugar durante o dia, os mosquitos da mata que já sugaram uma primeira vês o homem ou os animais. Obedecendo a regra geral entre os culicidios estes mosquitos tal e qual os stegomyias urbanos e os anofelinos, depois que sugam sangue uma primeira vês, o que fazem indiferentemente então, de dia ou de noite, mudam de habitos e daí em diante escolhem exclusivamente a noite para fazerem seus repastos secundarios. Tais mosquitos durante o dia, preferem ficar quietos num logar obscuro e suficientemente humido, enquanto se processa o crescimento dos ovos contidos no seu ventre e só voltam a picar quando sentem necessidade de sangue

á noite. E' por isso que ninguem adquire paludismo durante o dia nem tambem o stegomyia transmite expontaneamente febre amarela ao homem durante o dia, como é por demais sabido.

Em relação á febre amarela da mata parece que o mesmo fato ocorre, e os trabalhos já feitos na Estação de Biologia Silvestre que fizemos construir em Perús estão confirmando completamente esse fenomeno curioso da biologia dos mosquitos em geral.

Assim, ao passo que as capturas feitas a qualquer hora do dia em Perús, na mata em que está instalada a estação, não dão um unico inséto que já tenha sugado sangue anteriormente, á noite, ao contrario, já têm sido apanhados nas dependencias da propria estação, alguns exemplares de *Lutzia brasiliae*, *Aedes leucocelanos*, *Mansonia titilans*, *Goeldia pallidiventer* e um *culex* ainda não determinado, com o abdomen cheio de ovos desenvolvidos e falta de escamas pelo corpo, demonstrando serem mosquitos que já sugaram anteriormente e estão um tanto velhos.

Assim forçoso é concluir que nas matas, como nas cidades e nas zonas em que reina o paludismo, os mosquitos que nos atacam durante o dia são sempre mosquitos novos, ao passo que os culicidios que já sugaram uma vês, mudam de habitos e passam a sugar a noite como é a regra geral para esses insétos.

Uma vês que as cousas se passam deste modo torna-se necessario admitir que os casos de infecção amarilica adquiridos durante o dia, na mata, não vem da picada dos mosquitos e sim entrando a pele das pessoas em contacto com o virus expelido pelos insétos infectados com as goticolas de fezes, as quais como demonstraram nossas experiencias com o dr. Costa Lima, contêm virus que atravessa facilmente a pele intacta. Assim se explica porque pessoas que entraram por muito pouco tempo na mata, durante o dia, tivessem adquirido febre amarela, quando nenhuma probabilidade tinham de haverem sido picadas por mosquitos inõ fectados. Observamos na mata de Perús, em abril de 1937, um caso de febre amarela num trabalhador que se ocupava em cortar folhagens para fazer fogueiras e que trabalhava numa zona privada de mosquitos, pela fumaça, e que julgamos se ter infectado entrando sua pele em contacto com fezes de mosquitos contaminados, acaso existentes nas folhagens que cortava para colocar nas fogueiras.

Como os mosquitos que já sugaram estão constantemente a expelir goticulas de fezes, é possivel que elas venham cair diretamente sobre a pele das pessoas que se acham na mata e, se contêm virus, provoquem a infecção amarilica. Tanto de um modo como de outro, é a unica maneira que temos para poder explicar as infecções ocorridas na mata, durante o dia, em pessoas que nela penetraram, ás vêses mesmo

por um tempo extraordinariamente curto. Tais pessoas certamente não foram picadas por mosquitos infectados, pois durante o dia só se é atacado por mosquitos novos, ainda não tendo sugado, como as observações feitas por nós e hoje já largamente confirmadas estão a demonstrar. Tudo leva a crer que assim seja uma vês que a infecção hereditaria nos mosquitos da mata não é provavel pelo que se sabe a respeito do *stegomyia* tantas vêses experimentado, com resultados negativos, a este respeito.

No laboratorio as fezes dos mosquitos infectados depositadas sobre as paredes das gaiolas e vidros em que estão presos os insétos, se mantêm virulentas por bastante tempo, a temperatura ambiente, e na mata ainda será mais facil essa conservação, dada a temperatura bais baixa e menor luminosidade do meio.

Si no macaco a infecção pela simples deposição das fezes de mosquitos infectados, sobre a pele intacta do animal, reproduz a febre amarela no animal, muito mais facil será a infecção do homem que tem a pele mais fina e quasi sempre um tanto humida na mata, devido á sudação e a dificuldade de evaporação no ambiente dela quasi sempre bastante carregado de vapor dagua.

Ainda é possivel ocorrer na mata que outros insétos, moscas, motucas, etc., pousando numa folha em que existem fezes de mosquitos infectados acarretem o virus nas suas patas e na tromba e o venham depositar na pele de uma pessoa sobre que pousem.

Todas as hipóteses são aceitaveis diante desta constatação bastante certa hoje, tal o numero de observações feitas, de que os mosquitos que nos picam na mata durante o dia, são sempre novos e sugam pela primeira vês.

Ainda recentemente tivemos ocasião de confirmar essa observação nas matas de Vencesláo, nas quais observamos que os mosquitos, especialmente esse *Aedes scapularis* que aí enxameia durante o dia, eram sempre insétos novos e sanguesedentos.

Parece, portanto, haver na mata, um duplo modo de transmissão da febre amarela: durante o dia, sem a picada do mosquito, entrando a pele humana em contacto com fezes contaminadas, e á noite não só por este meio como tambem pela picada de mosquitos infectados com o virus amarilico.

O problema apresenta como se vê os mais interessantes aspectos epidemiologicos a desafiar a capacidade dos pesquizadores.

As diversas capturas de mosquitos nas matas de Presidente Vencesláo, Caiuá e Presidente Epitacio, revelaram a existencia de numerosas especies, mas sempre dominando entre elas pela sua abundancia o *Aedes*

scapularis que em alguns pontos atacavam as pessoas que atravessavam ou paravam nessas matas, em verdadeiros enxames. Raramente temos visto em tão grande numero esses mosquitos que durante o dia entram nos ranchos perto da mata como observamos em Bandeirantes e Bôa Vista para sugar as pessoas que neles se ácham.

A abundancia do *Aedes scapularis* nas matas, embora sejam elas bastante sêcas, deixa bem avaliar quão vultuoso é o numero desses mosquitos que se infecta encontrando um doente apropriado de febre amarela ou um animal portador de virus que seja por êle atacado. Pelo seu papel evidentemente importante na transmissão da febre amarela silvestre o *Aedes scapularis* é uma especie cuja biologia precisa ser bem estudada em muitos pontos, pois seu numero é surpreendente em locais onde não ha quasi agua para justificar a existencia de grandes fócos deles. Tem-se a impressão, ao inspeccionar as matas da região de Vencesláo, que existem nelas criadouros especiais desses mosquitos, ainda não descobertos, ou que êles provenham de pontos distantes onde existam condições favoraveis para sua abundante proliferação.

Além dos *Aedes scapularis* encontram-se nas matas que percorremos muitas outras especies de mosquitos, embora menos numerosos do que aqueles. As listas abaixo dão uma relação dessas especies mais comuns que no entanto não devem ainda representar toda a fauna culicidiana local, pois as capturas não foram feitas em tempo suficientemente longo para estabelecerem juizo definitivo a respeito.

De acordo com as primeiras determinações feitas pelo sr. Alberto Ramos, as especies de mosquitos mais comuns capturadas por êle e seus auxiliares, são as seguintes:

MATAS DE PRESIDENTE VENCESLÁO

1 — *Psorophora ferox* Humbald, 1920.
2 — *Psorophora lutzi* Theobald, 1901.
3 — *Sabethes albiprivus* Theobald, 1903.
4 — *Sabethoides chloropteros* Humb., 1820.
5 — *Aedes serratus* Theobald, 1901.
6 — *Aedes scapularis* Rand, 1843.
7 — *Limatus durhami* Theobald, 1901.
8 — *Wyeomyia* sp.?
9 — *Aedes fulvus* Wied, 1928.
10 — *Sabethes belisaroi* Neiva, 1922.
11 — *Psorophora discrucians* Walker, 1856.

12 — *Wyeomyia* sp.?
13 — *Sabethoides intermedius* Lutz, 1903.
14 — *Psophora varipes* Coquil, 1904.
15 — *Aedes leucocelanus* Dyar e Shannon, 1924.

MATAS DE CAIUÁ

1 — *Psorophora lutzi* Theobald, 1901.
2 — *Psorophora discrucians* Walker, 1856.
3 — *Aedes scapularis* Rond, 1848.
4 — *Psorophora varipes* Coquil, 1904.
5 — *Psorophora ferox* Humb., 1820.
6 — *Sabethes albiprivus* Theobald, 1903.
7 — *Anopheles tarsimaculatus* Goeldi, 1906.
8 — *Hemagogus jantinomys* Dyar, 1921.
9 — *Mansonia fasciolata* L. Arrib., 1891.
10 — *Aedes serratus* Theob., 1901.
11 — *Sabethoides chloropterus* Humb., 1820.
12 — *Psorophora ciliata* Tobr., 1794.
13 — *Wyeomyia* sp.?

MATAS DE PRESIDENTE EPITACIO

1 — *Aedes scapularis* Rond, 1848.
2 — *Psorophora discrucians* Walk, 1856.
3 — *Sabethoides chloropterus* Humb., 1820.
4 — *Psorophora lutzi* Theobald, 1901.
5 — *Anopheles darlingi* Root, 1926.
6 — *Psorophora ferox* Humb., 1820.
7 — *Aedomyia squamipennis* L. Arrib., 1878.
8 — *Sabethoides chloropterus* Humb., 1920.
9 — *Sabethes albiprivus* Theob., 1903.

Nas matas da região as anophlinas são raras, tendo porém nós as encontrado em abundancia no rio Caiuá proximo á sua desembocadura no rio Paraná, onde nosso vagon foi invadido á noite por cerca de 200 mosquitos pertencentes á especie *A. darlingi*.

Em Porto Tibiriçá, em Caiuá, Porto Epitacio e em Presidente Vencesláo, foram encontrados tambem *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. O indice stegomico atual de Vencesláo não excede de 1,5%, o qual não permite este ano a ocurrencia de casos urbanos nesta localidade. No ano passado, porém, quando o indice da localidade durante o surto de febre amarela estava acima de 22%, constituiu-se em Abril um fóco urbano da molestia em torno de uma pensão á qual vieram ter, nessa época, doentes no periodo infectante, ocorrendo cerca de 12 casos dos quais um fatal em pessoas que não foram absolutamente á mata, aliás já distante cerca de 3 kilometros da vila.

Esta ocurrencia vem demonstrar que nenhum óbice existe mesmo em São Paulo, para que a febre amarela silvestre entre nas cidades e aí constitua um fóco como aconteceu em Presidente Vencesláo, desde que o indice stegomico seja alto e as condições de temperatura facilitem o desenvolvimento do virus. Aliás a ocurrencia de um pequeno fóco de febre amarela urbana de origem silvestre em Presidente Vencesláo não é mais do que a confirmação e repetição do que ocorreu em Cambará, Teofilo Ottoni, Figueira, Ponta Porã, Assunção, etc., nestes ultimos tempos e tais fócos continuarão a aparecer sempre que houver indices stegomicos altos e condições climaticas favoraveis nas cidades e vilas proximas ás zonas em que reinar a febre amarela silvestre.

Durante o tempo que estivemos em Presidente Vencesláo não houve oportunidade para fazermos autopsias de casos de febre amarela por não ter ocorrido, nesse periodo, nenhum falecimento entre os doentes que lá vimos, dos quais uns curaram e outros ainda ficaram com a molestia em evolução. Destes aliás nenhum parecia tender para uma evolução fatal e o que vimos com sintomas mais graves, Tomaz del Valis, afinal curou. Depois que voltamos de Vencesláo ocorreu um unico caso de febre amarela em uma pessoa não vacinada, de nome Sebastião Rodrigues que adoeceu em 8-2-38, e faleceu em 17-2-38, apresentando seu figado lesões histo-patologicas tipicas.

Anteriormente, porém, á nossa chegada houve 3 falecimentos em doentes do fóco de Vencesláo-Caiuá, sendo que de dous dos cadaveres foi possivel obter figado para exame histo-patologico resultando positivo, para febre amarela, o de José Silva, que teve morte rapida. Outro doente, Manoel Ramalho, vindo do local, fazenda Bandeirantes, morreu ao cabo de 21 dias de molestia, extraordinariamente icterico. Os clinicos que o trataram em vista dos sintomas que apresentou nos primeiros dias da molestia, da albuminuria massiça e da ictericia e do local donde vinha, não tiveram duvidas em classificar o caso como sendo de febre amarela. Este doente tendo adoecido em 11 de dezembro veio a falecer a

4 de janeiro extremamente ictérico, como não é de regra na febre amarela e o exame histo-patologico do figado resultou negativo para esta molestia, revelando apenas forte retenção biliar, indicio de uma ictericia grave.

Estabeleceu-se assim neste caso uma divergencia de opiniões entre o clinico e o epidemiologista de um lado, afirmando ambos ser o caso de febre amarela e do outro o anatomo-patologista infirmando tal diagnostico por não ter encontrado pela autopsia e o exame histo-patologico lesões de febre amarela. Esta divergencia de opiniões embora rara, já tem sido observada algumas vêses no decurso das epidemias de febre amarela urbana ou silvestre em meio dos numerosos casos em que existe a mais completa concordancia entre os resultados do epidemiologista, do clinico e do anatomo-patologista.

A divergencia acima referida e da qual o caso de Manoel Ramalho é um exemplo caracteristico explica-se, segundo pensamos, pelo fato do doente ter tido inicialmente febre amarela logo reconhecida pelo clinico pelos sintomas que o doente apresenta e que o epidemiologista confirma pelos inqueritos que faz. Acontece, porém, que o ataque de febre amarela evolue sem a gravidade suficiente para levar o doente á morte, mas já é bastante forte para abater o paciente, permitindo que o seu organismo combalido pelo primeiro mal seja invadido secundariamente por uma ictericia grave, por uma angiocholite, por uma pneumonia ou por qualquer outra infecção, etc., como já tem sido observado, e seja a molestia secundaria e não a febre amarela, que leva afinal o doente á morte. Geralmente a morte nestes casos ocorre com prazo de mais de 12 dias, o que não concorda muito com o que sucede nos casos puros de febre amarela, nos quais o exito lethal se dá em regra ao cabo de 7 a 12 dias de molestia.

E' claro que nos casos acima referidos não sendo a febre amarela a causa real da morte do individuo, não deva apresentar seu figado lesões tipicas dessa molestia, a qual foi apenas um incidente morbido primitivo e passageiro. No caso de Manoel Ramalho, por exemplo, que não morreu de sua febre amarela inicial, mas de uma ictericia grave secundaria cuja natureza não poude ser apurada com segurança, o exame do figado apenas deu indicação de uma forte retenção biliar e ausencia das lesões classicas de febre amarela, embora êle tivesse adoecido com sintomas do *tiphus icteroides* quasi ao mesmo tempo que mais dous companheiros, dos quais um faleceu, num rancho na fazenda Bandeirantes, situado a uns vinte metros da casa onde 15 dias mais tarde vimos o doente Manoel Gomes no 2.º dia da molestia, confirmada pelo isolamento do virus em camondongos e macacos rhesus. Nesta mesma casa

de Manoel Gomes houve outros casos em seus irmãos de modo que o local deve ser considerado, sem duvida alguma, como um fóco da molestia.

A molestia de Manoel Ramalho ao envés de matar ou curar em cerca de 10 dias como de habito acontece na febre amarela, prolongou-se por 21 dias, acentuando-se sua ictericia cada vez mais, e afinal êle morreu sem a classica lesão histo-patologica do figado, embora clinicamente êle tivesse tido anteriormente sintomas de febre amarela e morasse em um fóco de febre amarela que continuou a dar casos.

A explicação mais logica e aceitavel para resolver as divergencias que surgem neste e noutros casos analogos, nos parece ser a que demos acima da superveniencia de um estado morbido que se sobrepõe a uma infecção amarilica por efeito do enfraquecimento do organismo por esta molestia. E' esta segunda molestia que afinal leva de fato o doente á morte. Trata-se no caso de uma molestia de « sortie » que se enxerta sobre a primeira como os germens aos quais certos bacteriologistas franceses dão esta denominação por se enxertarem secundariamente em certos estados morbidos nos quais inicialmente não estão em causa. Aliás é comum em outras molestias infectuosas a ocurrencia do doente vir a ser vitimado por uma infecção ou estado morbido consequente á debilitação do organismo pela doença primitiva e a febre amarela logicamente não podia fazer exceção a essa regra tão comum.

Depois que apresentamos esta explicação para os casos em que ha divergencia de opinião entre o anatomo-patologista de um lado e o clinico e o epidemiologista do outro, temos tido o prazer de receber de colegas referencias a observações analogas á de Gabriel Ramalho confirmando a opinião que expendemos sobre o assunto. Assim o dr. Neckyr Telles por exemplo, nos citou o caso do doente Zulmiro Alves por êle observado no municipio de Mirasol durante a epidemia de 1935, que adoeceu a 7 de dezembro de 1935 em um fóco da molestia, tendo apresentado inicialmente sintomas de febre amarela, mas que afinal veio a falecer, no dia 19 do mesmo mês, com um grande abcesso da região retro-faringeana. O exame de figado neste caso resultou negativo para febre amarela em desacordo com o que esperava o nosso colega, porém explicavel pelo fato de ter o doente sucumbido ás consequencias da supuração que apresentou secundariamente e não devido a infecção inicial.

Por sua vês o dr. Pereira Barreto teve ocasião de observar um caso semelhante na pessoa de João Vieira que adoeceu com febre amarela a 23 de fevereiro de 1937, em Parnaíba e foi removido para o Hospital de Isolamento de São Paulo, onde sua molestia evoluiu sem gravidade, tendo porém o doente apresentado em seguida a ela uma adinamia

que cada vês mais se foi acentuando e a qual afinal sucumbiu no dia 10-3-37, tendo o dr. João Montenegro considerado o caso como apenas suspeito de febre amarela pela natureza das lesões encontradas no figado. O doente acima apresentava uma criptorquidia completa e sendo como de regra nesses casos, um individuo muito debil, sem resistencia organica, a febre amarela combaliu por tal forma seu organismo que êle não poude mais reagir á infecção, vindo a morrer em profunda adinamia 15 dias depois, sem apresentar lesões bastante tipicas para justificar um diagnostico positivo e decisivo de parte de um anatomo-patologista conhecedor do assunto.

Mais recentemente o dr. Fred Sopper teve ocasião de nos referir ter observado um caso de febre amarela em que, á molestia inicial, se sobrepoz uma pneumonia que foi afinal a doença que levou o doente á morte, não tendo igualmente neste caso, os anatomo-patologistas encontrado as classicas lesões do figado. Como estas existem outras referencias analogas, tendentes a demonstrar que nem sempre é a febre amarela que mata o doente mas sim um estado morbido secundario que se enxerta no organismo combalido por essa molestia e que é afinal o que leva o doente á morte.

Estamos certos de que chamando agora a atenção para o assunto, êle merecerá a maior atenção por parte dos clinicos, epidemiologistas e anatomo-patologistas, todos interessados em chegarem a um acordo completo no maior numero de casos com uma apreciação judiciosa dos elementos com que cada um contribue.

São estas em resumo as considerações que tinhamos a fazer sobre o fóco de febre amarela que surgiu na zona de Presidente Vencesláo-Caiuá, em principios de dezembro de 1937, e no qual ocorreram 21 casos entre benignos, graves e mortais até 8 de fevereiro deste ano.

Durante o serviço de vacinação, que abrangeu 8.099 pessoas e foi feito entre 14 e 28 de janeiro, houve a ocurrencia de dous casos da molestia nos não vacinados, Antonio Ferrari e Ludwig Bresler, e depois dela até 28 de fevereiro houve apenas um caso tambem em um não vacinado, Sebastião Rodrigues que adoeceu a 8 e faleceu a 17 de fevereiro, tendo tido manifestações clinicas tipicas de febre amarela e exame histo-patologico do figado positivo.

Apresentamos junto um mapa parcial dos municipios de Presidente Vencesláo e Santo Anastacio, no qual se pode apreciar bem a localisação dos casos de febre amarela ocorridos na zona em apreço e os pontos em que foram feitas vacinações.

Encerramos por agora a exposição que vimos fazendo a respeito do fóco de febre amarela em Presidente Vencesláo-Caiuá, até a pre-

sente data, devendo nós completa-lo ulteriormente com os dados e resultados definitivos dos trabalhos ainda em andamento a respeito dêle.

Ao apresenta-lo cumpre-nos agradecer ainda uma vês o precioso auxilio que nesta emergencia nos prestaram com o mais elevado e honroso espirito de cooperação, as autoridades e clinicos locais, o Serviço Sanitario do Estado de São Paulo, o Serviço Federal de Febre Amarela, a Diretoria da Estrada de Ferro Sorocabana, e todos os nossos dedicados companheiros e auxiliares do Serviço Especial de Defesa contra a Febre Amarela.

São Paulo, 28 de Fevereiro de 1938.

Alguns fatores que limitam o habitat de varias especies de carangueijos do genero *Uca* Leach. *

(Decapoda: Ocypodidae)

por

Lejeune P. H. de Oliveira

Observamos que certas especies de crustáceos do genero *Uca* têm localisação restringida, embora sejam animais que possam correr e possam andar com toda facilidade, embora vivam nos manguesais, estuarios, pantanos salgados, onde o aspecto é á primeira vista completamente homogêneo. Observamos que cada grupo de especies habita num determinado tipo de pantano. Fóra destes pantanos as especies se misturam muito pouco, a não ser quando forçadas por certas circunstancias, sendo as principais as grandes chuvas, as grandes sêcas, as grandes marés, e por época do cío. Mesmo nestas épocas ha dois grupos de especies que não se misturam: a *Uca leptodactyla* Guérin, 1936, e a *Uca pugnax* (Smith) variedade *brasiliensis* Oliveira, 1939.

No barro dos pantanos alguns fatores mais faceis de serem evidenciados para a distribuição dos crustáceos do genero *Uca*, assim como tambem para outros animais aí existentes são os seguintes:

1.º — O tamanho dos grãos de areia que devem permitir o facil escavar da tóca em relação com o tamanho e a robustez do animal. (Textura do barro).

2.º — A salinidade (expressa em cloretos por 1000 gramas) existente na agua infiltrada no barro.

3.º — A existencia de certos sais, principalmente de ferro e de calcio, em proporção elevada, indispensaveis no habitat de algumas especies.

4.º — A proporção de substancias organicas existente nas varias

* Recebido para publicação a 19 de Agosto de 1939 e dado á publicidade em Dezembro de 1939.

camadas do barro e a qualidade destas substancias (gordura, carvão, madeira, folhas, etc.).

5.º — A disposição das varias camadas de argila e de areia e de cascalho no seu habitat, ao se fazer um corte vertical no pantano.

6.º — Caractéres organolepticos do barro (cheiro, côr).

Um dos fatores de capital importancia na relação entre a fauna existente no barro e a qualidade deste é a *textura* do mesmo. Para verifica-la usamos o seguinte método:

MÉTODOS DE TRABALHO

O barro que interessa ser analisado fica no local onde existem tócas dos caranguejos. A quantidade do material retirado pouco deve ultrapassar a profundidade de sua tóca. Obtida a amostra examinamo-la pelo processo adotado universalmente nos varios laboratorios de Biologia Marinha: o método do Dr. E. J. Allen. Neste método a determinação da textura do barro é feita por peneiras de zinco, com 20 centimetros de diametro, tendo cada peneira furos com diametros rigorosamente medidos. Não se usam telas metalicas, que não dão resultado homogêneo, nem comparavel ao dos varios autores estrangeiros. Usamos para medir a textura varias peneiras, adotando para cada tipo de textura os seguintes nomes:

Peneira de furos de 1/2 polegada de diametro, que retem material abaixo de 1 e maior que 1/2 polegada; denominamo-lo « cascalho grosso ».

Peneira cujos furos têm 1/1 de polegada de diametro retendo o « cascalho médio ». Outra com 11/64 de polegada retendo o « cascalho fino »; outra de 7/64 de polegada retendo a « areia grossa »; mais fina com 5/64 avos de polegada retendo a « areia média ». O material que passa através desta peneira é subdividido em duas partes: « areia fina » e « argila ». Esta separação se faz agitando o material com agua do mar, sempre do local do pantano, depois acalmando-o, colocando o vaso em repouso. Deixa-se sedimentar por 1 minuto, e transvaza-se. O deposito é a « areia fina », e o que foi no outro vaso é a « argila ». Esta « argila » pode ser ainda separada em dois elementos por uma sedimentação de 24 horas: o deposito é a « areia finissima » e o que fica

em suspensão a « argila pura ». Não foi necessario utilisar este ultimo tempo em nossas pesquisas. Começa-se a fazer a separação pela peneira mais fina, derramando-se agua do mar no barro, que cae com a « areia fina » e a « argila » num cristalisador de vidro. Para passar de peneira para peneira, se faz sempre molhando o barro com agua marinha do local deste pantano. Depois de separado o material, as peneiras são expostas ao sol para secar. Depois de sêco é pesado. O material seca-se muito rapidamente ao sol, com exceção de « areia fina » e de « argila », que é deixada secar durante varios dias á temperatura do laboratorio. Pode-se obter o seu peso por diferença. Na estufa a mais de 37° ela perde parte da materia organica. Para estas separações adotamos sempre 600 cc. de barro e 10 litros de agua do mar.

O peso da materia organica é obtido por incineração, que é rapida e facilima devido a ser quasi unicamente composta de carvão e grãosinhos de arvores de manguesais. A salinidade é dosada pelo processo comumente usado em varias estações de hidrobiologia, precipitando os sais pelo nitrato de prata em excesso, e dosando a prata excedente pelo sulfocianeto de potassio, num meio contendo alumen de ferro. A agua é obtida de um pequeno buraco feito no chão do pantano; assim que a agua aparece, deixa-se repousar e tira-se uma amostra. Examina-se a côr, cheiro, e outros caractéres: atoladiços, ou não. Depois de incinerados observa-se que os barros de restingas são constituidos de arenito avermelhado: mesma terra vermelha das montanhas do Distrito Federal (pantano de *Uca pugnax brasiliensis*). Os pantanos de praias são constituidos por areia branca trazida pelo mar (pantano de *Uca leptodactyla*).

RESULTADOS

A *Uca pugnax brasiliensis* vive em pantanos riquissimos em substancia organica: de 20 a mais de 30 por cento do peso total da amostra examinada. As partes componentes de seu pantano: « cascalho grosso », « médio » e « fino »; « areia grossa », « média » e « fina »; « argila »; são homogeneamente misturadas para o centro do pantano, sendo que nas bordas a camada superior tem maior proporção de « areia média ». As camadas mais profundas são constituidas quasi unicamente de « areia fina » misturada com « argila ». A quasi totalidade de materia organica de seu pantano é constituida por carvão e pequenos pedaços de madeira atacados pelo sal da agua do mar. A analise de seu barro pelo processo de Allen é a seguinte:

Quadro 1

Analise do barro do pantano de *Uca pugnax brasiliensis*

Peneiras	Peso total da amostra examinada	Peso das substancias organicas	o/o total das varias texturas	o/o das substancias organicas	o/o das substancias minerais
Acima de 1/2 polegada.	— —	— —	— —	— —	— —
Retido por peneira de 1/2 polegada.	7.	6,9	1,2	99,9	0,1
Retido por peneira de 1/4 de polegada.	35.	16,7	5,8	67,1	32,9
Retido por peneira de 11/64 de polegada.	62.	48,2	10,3	79,2	20,8
Retido por peneira de 7/64 de polegada.	57.	24,2	9,5	42,4	57,6
Retido por peneira de 5/64 de polegada.	21.	8,4	3,5	40,0	60,0
Area depositada em 1 minuto.	225.	51,0	37,5	27,1	72,9
Argila.	193.	22,0	32,1	11,4	88,6
Total	600.	184,2	99,9	30,7	69,3

Salinidade por mil: 25 por mil. [1]

Substancia mineral depois de incinerada de côr avermelhada, do mesmo aspéto que o arenito vermelho, a "terra vermelha" do Distrito Federal.

Substancia organica constituida na quasi totalidade por pedacinhos de carvão e gravetos de madeira.

Note-se que, pela analise feita, ha cerca de 35% de argila e de 35% de areia fina, sendo os 30% restantes repartidos nas outras texturas. Ha praticamente proporção egual de « cascalho fino » e « areia grossa », sendo estes constituidos respectivamente por cerca de 80% e 50% de carvão e pedacinhos de madeira. A maior parte da substancia mineral é constituida por « areia fina » e « argila ». O « cascalho grosso » é constituido unicamente por carvão, mas entra em pequena porcentagem no barro total: 1,2%. Na massa util do pantano não ha pedras acima de 1/2 polegada de diametro. Este pantano aqui descrito corresponde ao habitat mais natural por ser o mais povoado pelas *Uca pugnax brasiliensis*; nele vemos milhares de carangueijos a sair e a entrar nas tócas; este é

[1] Os exemplares que habitam estuarios de rios apresentam no barro uma salinidade menor, até 12 por mil, e tem tambem um teor menor em substancias organicas, mas sempre possuem muita argiia (35—70 o/o).

o pantano existente na Ilha do Pinheiro, aonde foi apanhado o tipo desta variedade. Os pantanos verificados por nós na Ilha da Sapucaia, no estuario do Rio Faria, do rio Merití, nas restingas existentes proximas a iManguinhos, e em Neves, praticamente não diferem deste a não ser em detalhes minimos. As partes mais avermelhadas, que possuem menor quantidade de substancia organica são pouco povoadas por estes crustáceos, e se diferenciam logo dos pantanos de *Uca leptodactyla* porque esta habita em « pantanos de areia » e a *U. p. brasiliensis* habita em « pantanos de argila ». Por isso, os pantanos de *brasiliensis* são atoladiços, verde-escuros. Tambem são fétidos, e ás vêses completamente negros.

A especie *Uca leptodactyla* vive em pantanos ou praias com uma camada superior de areia finissima ou fina. Os seus pantanos não são atoladiços, são brancos ou amarelados, possuem uma pequena camada de areia por cima, com poucos centimetros de altura. Possuem um cheiro agradavel, ou não são fétdios. A analise do seu barro pelo processo de Allen é a seguinte:

Quadro 2

Analise do barro do pantano de *Uca leptodactyla*

Peneiras	Peso total da amostra examinada	Peso das substancias organicas	o/o total das varias texturas	o/o das substancias organicas	o/o das substancia minerais
Acima de 1/2 polegada.	14.	——	2,9	——	——
Retido por peneira de 1/2 polegada.	10,5	0,1	1,3	1.	99.
Retido por peneira de 1/4 de polegada.	22.	0,4	3,7	1,8	98,2
Retido por peneira de 11/64 de polegada.	59.	0,3	9,8	0,5	99,5
Retido por peneira de 7/64 de polegada.	88.	0,5	14,6	0,5	99,5
Retido por peneira de 5/64 de polegada.	320.	14,4	53,3	4,5	95,5
Area depositada em 1 minuto.	46,2	0,9	7,7	2,0	98.
Argila.	40,3	6,6	6,7	1,5	98,5
Total	600.	22,6	100,0	3,8	96,2

Salinidade desde 15 até 32 por mil. Mesmo 35 por mil.

Substancia mineral é formada por area clara, pedrinhas de quartzo com uma camada verde de algas aderentes, e tem o aspéto de area trazida pelo mar.

Substancias organicas muito poucas.

As partes componentes principais de seu pantano são: a « areia média » e a « areia grossa », tendo uma camada de « areia fina » por cima do pantano. A quantidade da substancia organica é pequenissima e pela porcentagem de argila reduzida a 6,7% vê-se que a sua areia é solta, facilmente escavavel, podendo fazer a tóca mesmo quando não molhada, ficando um pouco acima do nivel da maré.

Este trabalho vem sendo observado desde um prazo longo, desde Outubro de 1937.

BIBLIOGRAFIA

ALLEN, E. J.

1899. On the Fauna and Botton Deposits near the Thirty-Fath on Line from the Eddystone Grounds to The Start-Point. Journ. Mar. Biol. Assoc., N. S., **5** : 377-381.

OLIVEIRA, L. P. H. DE

1939. Contribuição ao conhecimento dos Crustaceos do Rio de Janeiro. Mem. Inst. Osw. Cruz, **34** : 115-148, 64 figs.

1939. Notas sobre a Biologia dos Adultos do genero *Uca*, Leach. No livro em homenagem aos Profs. Drs. Alvaro e Miguel Ozorio de Almeida. Rio de Janeiro.

Observations on the habitat of the genus *Uca* Fiddler-Crabs

(Decapoda: Ocypodidae)

by

Lejeune P. H. de Oliveira

The summary of preceeding portuguese paper is the following: On a estuarine mud in a polluted area of the Rio de Janeiro Harbour, some factors easily evidenced for the fiddler-crabs *Uca* distribuition are the following:

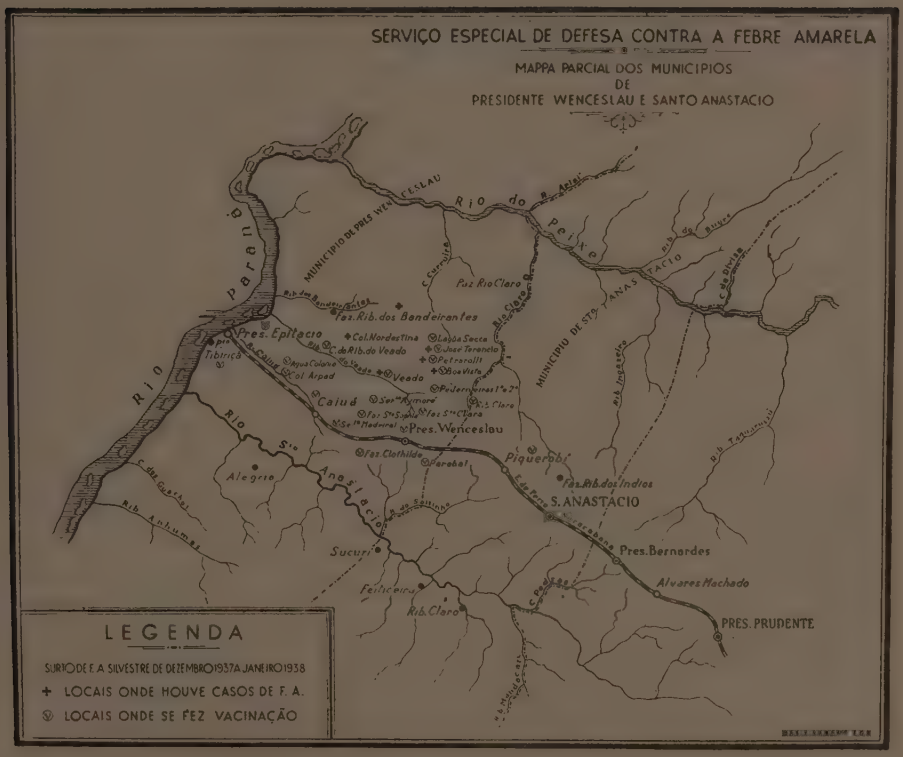
1st.) Texture of the ground verified after technics established by Dr. E. J. Allen. 2nd.) Salinity of infiltrated water in the mud. 3rd.) Existing salts of iron and calcium for certains especies. 4th.) Relation in organic contents for every stratum. 5th.) The dispositions of several every stratum of silt and of sand: and the general arrangement of constituintes of mud. 6th.) The colour, the odor, and others conditions of the ground: mire, muds, stone muds, mangrove muds, etc. We analysed by the technics preconised by Allen, but using dissimilar measures because of obtainment of tape-bores rigourosly graduated in 1/2, 1/4, 11/64, 7/64, 5/64 inched for the sieves construtions. The connexion in the portuguese language with the terms adopted by Dr. Allen are these:

Stones — All inorganic material which will not pass through a 15 mm. sieve: *Cascalho grosso* between 1-1/2 inches, left on a 1/2 inched sieve. *Coarse gravel* — Material left on a 5 mm. sieve: *Cascalho médio* between 1/4 and 1/2 inches, and a portion of *cascalho fino* between 11/64-1/4 inches. *Medium gravel* — Material left on a 2,5 mm. sieve: It is a portion of *cascalho fino* and *areia grossa* left on a 7/64 inched sieve. *Fine gravel* — Material left on a 1,5 mm. sieve. It is the *areia média* portions left on a 5/64 inched sieve. *Coarse sand* — Material left on a 1 mm. sieve; and *medium sand* — material left on a 0,5 mm. sieve corresponding to the *areia fina* deposited in one minute after stirring. *Fine sand* — passing 0,5 mm. sieve but which settles in one minute after stirring: *areia finissima* that which settles in 24 hours after stirring. *Silt* — remains in suspension at the end of one minute: equally *argilla pura* in portuguese.

For the *Areia finissima* with *argila pura* that remains in suspension in one minute after stiring we use the nickname *argila* without the adjectivation *pura*.

The obtained results summary is that:

Uca leptodactyla salt-marsh	*Uca pugnax* var. *brasiliensis* salt-marsh
Pratically arenous mud whithout silt. (only 2- 5 o/o of total dry weight of examined sample.)	Pratically a silt-mud, whith 32 o/o or more of silt.
Organic contents 2- 3,5 o/o	Organic contents of more 30 o/o Organic matter are little wood-pieces, and cook-pieces in the greater number.
Incinerated material has the aspect of white sea sand.	Incinerated material has the aspect of red soil of Rio de Janeiro mountains.



Aragão: Febre amarela silvestre no Estado de S. Paulo.

Investigações sobre a capacidade sulfurigena das bacterias *

por

Genesio Pacheco, José Noronha Péres e Italo Viviani Mattoso

(Com 2 graficos e 2 figuras no texto)

Apezar dos progressos no estudo da bioquímica bacteriana muitas provas utilisadas na especificação desses microorganismos exigem ainda acurado estudo para o necessario apuramento, isto é, para aumentar-lhes a sensibilidade e escoimal-as de erros que ocorrem com frequencia. Dentre essas provas está a da pesquisa do hidrogenio sulfurado.

Origina-se este corpo do enxofre existente na molecula proteica dos meios de cultura ou de substancias sulfuradas a êles adicionadas para aumentar ou facilitar a produção de H_2S pelas bacterias. Demonstraram Wohlgemuth (1), Sasaki & Otsuka (2), que a cistina era a principal fonte de H_2S produzida pelas bacterias na putrefação, e Tilley (3) verificou, com várias marcas de peptona utilisadas como fontes sulfurigenas, que a produção de H_2S dependia do teôr em cistina desses produtos. Tanner (4) encontrou produção de H_2S com peptona e com varios compostos sulfurados — tiouréa e tiosulfato dê sódio, sob ação de varias especies bacterianas, não tendo observado produção deste gás com taurina, sulfito e sulfato de sodio.

A produção de H_2S pelas bacterias nos meios de cultura ficava, assim, adstrita á presença de compostos contendo enxofre na sua molecula. A analise das experiencias de Sasaki & Otsuka (2) revela aquilo que Tilley (3) observou tambem posteriormente, isto é, que tanto mais oxidado é o enxofre do corpo sulfurado quanto menos atacavel é este corpo pelas bacterias para produção de H_2S. Decorre da observação que devem ser preferidos nos meios de cultura para aumentar-lhes a produção de H_2S

* Recebido para publicação a 25 de Agosto de 1939 e dado á publicidade em Dezembro de 1939.

os corpos sulfurados nos quais o enxofre seja menos oxidado. Dentre estes foi aconselhado por Tilley a cistina.

Podendo ser aceita a junção da cistina, á vista do aumento de H_2S observado nas culturas bacterianas em que este corpo é adicionado ao meio nutritivo, torna-se aconselhavel o seu uso com esse fim.

Hunter & Crecelius (5) procuraram substituir a cistina pelo sulfito de sodio como fonte sulfurigena, adicionando-o a um agar-peptonado (meio I). Antes deles, porém, Sasaki & Otsuka (2) haviam verificado que o sulfito de sodio era decomposto pelas bacterias com produção de H_2S, mas só o era por algumas bacterias dentre as ensaiadas por estes pesquisadores. Mostraram-se capazes de decompôr o sulfito os bacilos coli, paratifico B e disentericos, assim como o vibrião colerico. No grupo de bacterias incapazes de decompôr o sulfito de sodio com produção de H_2S figurava o *proteus*, bacteria reconhecida por todos das mais ativas produtoras de hidrogenio sulfurado nos meios de cultura. Ensaiando Wilson (6) a redução dos sulfitos pelas bacterias, valendo-se do acetato de chumbo e do clorêto de ferro como indicadores dessa redução, verificara êle serem capazes de realizar essa transformação os bacilos fermentadores da lactose (coli), numerosas salmonelas (paratifos), incluindo a *Salmonella typhosa*, excetuando-se a *Salmonella paratyphi* (paratifo A), *S. suipestifer*, *S. abortus-equi*, *S. gallinarum* e *S. pullorum*. Dentre as bacterias não redutoras figurava ainda o *proteus*. Não havia duvida, pois, teoricamente o meio de Hunter & Crecelius era inadequado á pesquisa de H_2S nas culturas bacterianas porque partia de uma propriedade não comum a muitas bacterias, dentre as quais algumas seguramente não dotadas de capacidade redutora do sulfito de sodio. Demais, como mostra o trabalho de Wilson, o sulfeto, um dos compostos resultantes da redução dos sulfitos, é capaz de enegrecer os indicadores usualmente utilisados para verificar a presença de H_2S. E' perfeitamente provavel que isto ocorra no meio de Hunter & Crecelius. Verificamos que bacterias seguramente sulfurigenas, como os proteus e as brucelas, não produziam escurecimento, e não seriam, portanto, sulfurigenas no meio proposto por esses pesquisadores, ao passo que as bacterias dotadas da capacidade de redução do sulfito acima referidas no trabalho de Wilson (6) mostraram

em nossas mãos capacidade escurecedora no meio por nós proposto anteriormente (12).

Observamos, por outro lado, que a supressão do sulfito de sodio na formula do meio por êles proposto fel-o perder a capacidade de escurecimento, apezar da sensibilidade incontestavel do liquor do bismuto ali conservado como indicador de reação, revelando que a « tryptona » não é suficientemente rica em cistina para ser utilizada como fonte de enxofre e que o escurecimento do meio deve correr por conta da redução do sulfito.

A redução do sulfito mereceu-nos mais demorada analise. Hunter & Crecelius adicionam um assucar ao meio para aumentar-lhes a sensibilidade. Usam a principio glicose, depois manita, e Wilson tambem acrescentou glicose ao meio de cultura nas suas experiencias com sulfito, sem referir qualquer deles o motivo dessa junção de assucar, mas deixando transparecer os primeiros, ser sua presença indispensavel para o fenomeno da redução do composto sulfurado.

Já em 1898 chamara Bigelow (7) a atenção sobre a capacidade de certas substancias de retardar a oxidação expontanea do sulfito de sodio em solução aquosa pelo oxigenio do ar. Verificára êle que este efeito retardador da oxidação, a que chamou « *efeito catalisador negativo* », era mais intenso com a manita, entre varios corpos experimentados e possuidores dessa capacidade — glicerina, alcool isobutilico, tartarato de sodio, sucinato de sodio, fenol e benzaldehido. Dentre as substancias dotadas de efeito catalisador negativo inclue-se o CO_2, que deve ser eliminado sempre que se fizerem experiencias sobre oxidação do sulfito de sodio, para afastar essa causa de erro. Cada molecula de manita é capaz de proteger, segundo Bigelow, 800 mols de sulfito de sodio. Aventou Titoff (8) a hipótese do catalisador negativo da oxidação do sulfito atuar sobre a substancia catalisadora positiva existente na solução como impureza, hipótese tambem aceita por Bredig (9). No caso da oxidação do sulfito de sodio esse catalisador positivo seria o cobre, pois que traços de sais de cobre aceleram enormemente a oxidação do sulfito. Os catalisadores negativos, impedindo a oxidação do sulfito, permitem que este possa, por mais tempo, sofrer a ação dos germens. O grafico 1 mostra como a manita retarda o desaparecimento do sulfito em solução aquosa exposto á ação do ar.

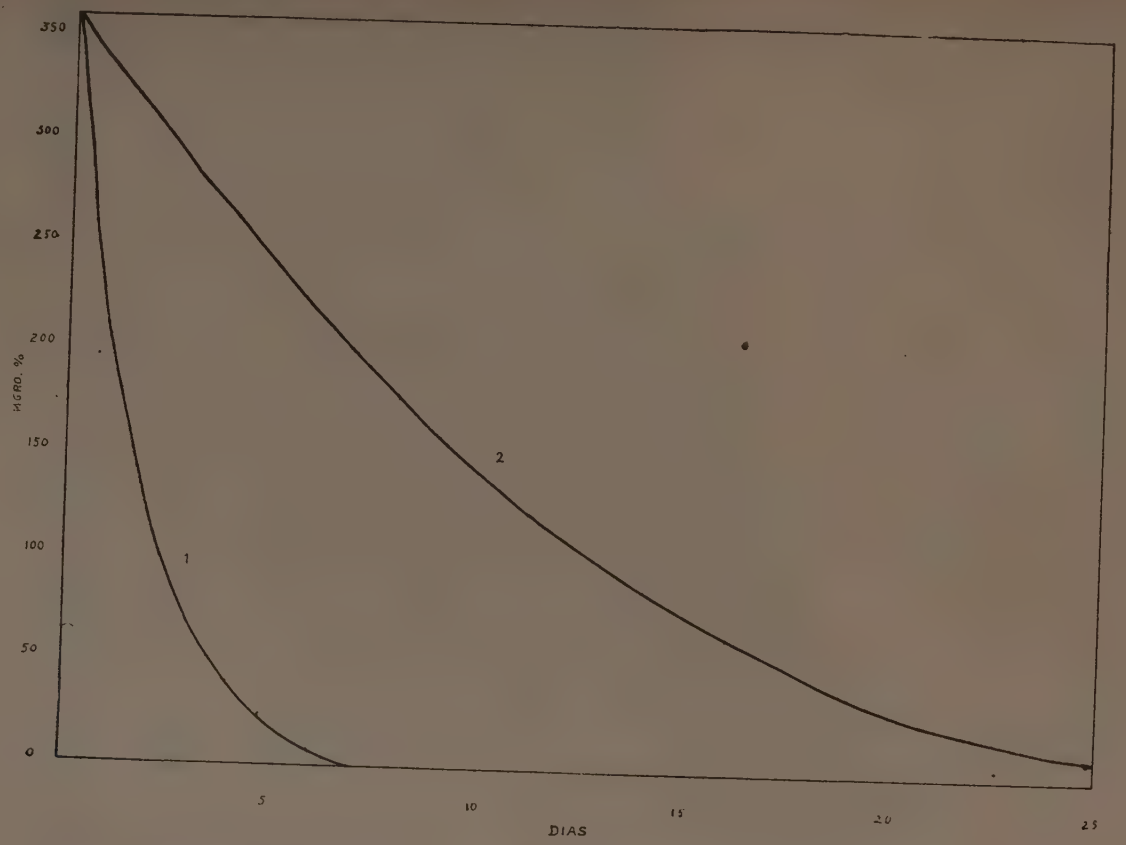


Grafico 1 — Estudo da ação impediente da manita sobre a oxidação expontanea do sulfito em solução aquosa, á temperatura ambiente.

1) Sulfito em solução aquosa. 2) Sulfito na presença de manita.

A junção de manita ao meio de cultura com sulfito deve influenciar a decomposição deste corpo por aquele mecanismo. O estudo das constantes de velocidade de reação mostrou que as curvas são do tipo monomolecular. Houve ligeiro aumento da velocidade de reação no final, devido naturalmente á maior facilidade de oxidação das moleculas de sulfito, que se tornaram cada vez menos numerosas, pelo oxigenio que se vai dissolvendo nagua.

Ensaiamos a influencia de alguns assucares sobre a oxidação do sulfito de sodio, sob ação de uma corrente continua e constante de ar purificado. O debito era mantido constante tanto quanto possivel pelo conjunto dos frascos de Woulf, que criavam resistencias a vencer, ainda aumentadas á saída do primeiro frasco pela passagem do ar através um tubo estreitado. No primeiro frasco colocamos na tubuladura central um tubo largo, que servia de regulador da pressão; neste tubo havia uma variação da coluna de liquido de cerca de 25 cms. para contrabalançar as variações de pressão da maquina de ar comprimido. No frasco seguinte a variação oscilava apenas 1 cm., e nos demais era imperceptivel. Resultou do arranjo um debito de corrente de ar inferior ao utilisado por Bigelow (62 litros por hora). Prolongou-se o tempo de experimentação para 60 minutos, permitindo a lentidão do processo oxidante a mais facil organisação das curvas. A taxa de oxidação não ultrapassou 25% neste espaço de tempo, a não ser para a sacarose, como se vê no grafico 2. Experimentamos a ação anticatalitica com outros assucares em comparação com a redução expontanea do sulfito.

Aumentamos o teôr de concentração do assucar acima do titulo empregado por Bigelow para poder apreciar melhor a conservação da solução de sulfito sob ação do ar atmosferico.

Infere-se dos resultados vistos no grafico 2 que exerceram ação catalitica negativa sobre a oxidação do sulfito a maltose, galatose, lactose, manita, glicose e a sacarose, pela ordem de capacidade anticatalitica. A sacarose, que não gosa de poder redutor, foi justamente dos disacarideos o que se nos revelou de menor ação anticatalitica dentre os experimentados na oxidação do sulfito.

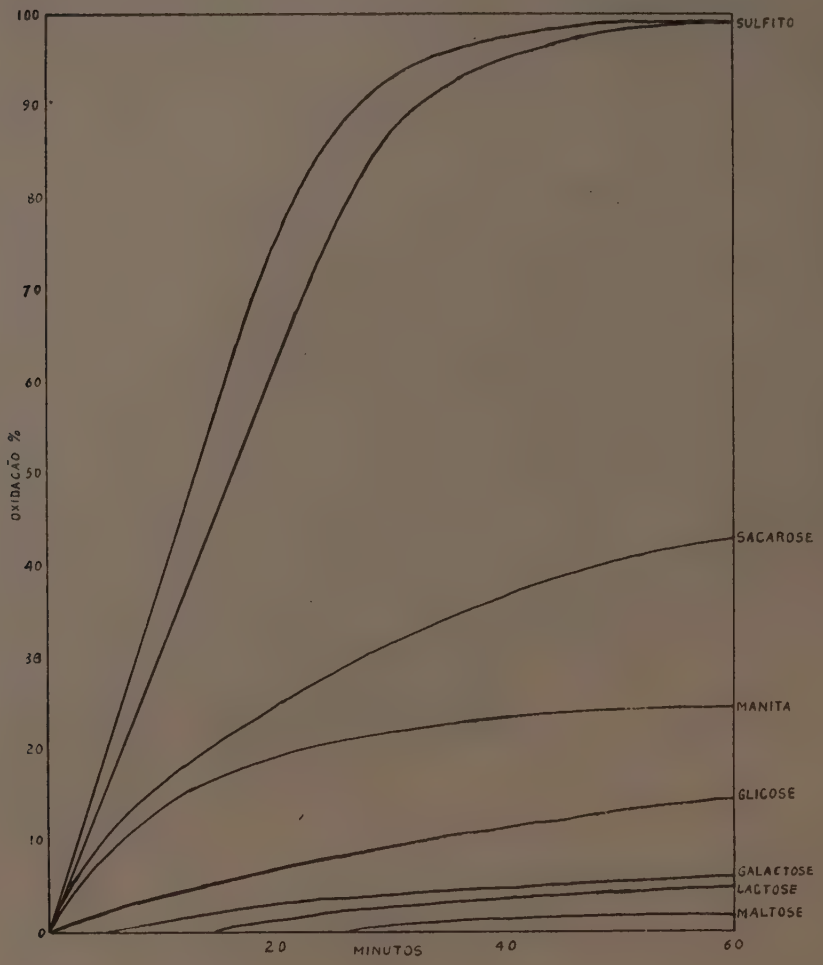


Grafico 2 — Ação de varios assucares como catalizadores negativos da oxidação do sulfito de sodio por uma corrente de ar (62 litros por hora).

NOTA — Os assucares ensaiados fôram dissolvidos a M/200 e o sulfito a M/50. A manita serviu como ponto de referencia.

Nos meios de cultura contendo sulfito, semeados com bacterias, a redução exercida por estas sobre o sulfito se passaria retirando as bacterias o oxigenio do sal para seu metabolismo e transformando-o possivelmente em sulfeto, de acôrdo com a equação:

$$2Na_2SO_3 = 2Na_2S + 3O_2$$

O sulfito em solução nos meios de cultura com bacterias tende a se transformar expontanea e rapidamente em sulfato, ás custas do oxigenio do ar dissolvido no meio ou do oxigenio resultante do metabolismo bacteriano, oxidação analoga á que sofre expontaneamente nas soluções.

O sulfito transformado em sulfeto pela ação bacteriana, como foi dito, pode ser fixado como sulfeto insoluvel em presença de um indicador conveniente — ferro, chumbo, bismuto, escurecendo-os. Teriamos assim uma indicação falsa da produção de H_2S, quando de fato o que haveria era unicamente uma redução do sulfito em sulfeto. Mas se isso não ocorre, pela ausencia de um fixador apropriado, êle sofre oxidação expontanea, transformando-se em sulfato, possivelmente sofrendo uma hidrólise prévia:

$$Na_2S + 2O_2 = Na_2SO_4$$

As nossas experiencias sobre a transformação do sulfito em sulfato não foram definitivamente concludentes porque na ausencia de sais fixadores do sulfeto não se obtinha evidencias da presença do ion sulfeto. Fizemos agir os germes sobre sulfito, na presença de manita (que êles fermentavam), mas no fim de 24, 48 ou 72 horas, ou ao fim de uma semana não se tinha libertado H_2S do meio.

Haviamos organisado um dispositivo para fixar o gás desprendido. A dosagem dos sulfetos teria importancia porque poderia se afastar com ela o erro da interpretação dos resultados no escurecimento do liquor de bismuto do meio de Hunter & Crecelius, que poderia provir desse corpo na decomposição do sulfito do meio, sob ação bacteriana, como vimos.

Facilmente conseguimos a distinção de sulfetos e sulfitos com sais soluveis de bismuto. A dificuldade encontrada para estimativa do sulfeto produzido com bacterias foi a solubilidade do sulfeto de bismuto ($Bi\,S_3$) no excesso do reativo bismutico, não sendo possivel empregar-se quantidade exata de reativo precipitante para o sulfeto porque o reativo de bismuto deve ser adicionado préviamente para evitar a oxidação secundaria do sulfeto e sua transformação em sulfato.

A substituição da manita pela lactose foi desfavoravel no acrescimo do escurecimento do meio como vemos no quadro 1.

Quadro 1

Provas comparativas no Meio de Hunter & Crecelius com manita e latose.

Germens	Manita	Latose
Salmonella typhosa	+++	—
S. schottmülleri	+++	—
Escherichia coli 295	—	—
Shigella flexneri 311	—	± ?
Sh. sonnei	—	± ?

Legenda: + reação positiva, indicada pela coloração castanho-escura do meio.
— reação negativa.
± ? traços negros em determinadas partes do meio.

Outro ponto a esmiuçar na analise da modificação do meio de bismuto proposto por Hunter & Crecelius era a questão do sal de bismuto a empregar. Apura-se dos dados da literatura referida acima que o bismuto é o indicador mais sensivel dos utilisados até o presente, e aquele que permite mais facilmente apreciar a produção de H_2S. Sobre este ponto não parece haver que discutir.

Resta examinar a sensibilidade do citrato de bismuto amoniacal em solução ou « liquor de bismuto ». Vimos acima que o meio de Hunter & Crecelius admite na sua composição uma fonte de enxofre inadequada á pesquisa da produção de H_2S, e que a supressão dessa fonte de enxofre suprimia ao mesmo tempo a propriedade do meio escurecer sob ação das bacterias. Poder-se-ia pensar que o enxofre das peptonas supriria essa falta, o que não se deu, e certamente já o viram aqueles pesquisadores, porque si não fôra assim não carecia ajuntar sulfito ao meio por êles proposto.

Encontramos dificuldades em obter partidas de meios limpidos em presença do liquor de bismuto, dificuldades referidas tambem por Hunter & Crecelius, mesmo utilisando a triptona « Difco ». Procurando esclarecer o motivo dessa irregularidade, pensamos na possibilidade de influir na precipitação o pH do meio.

Numa série de tubos contendo o meio de Hunter & Crecelius, com

pH variando de 6,0-7,4, com diferença de 0.2. foi visto que de pH 6.8 para baixo não havia precipitação, a qual ocorria com intensidade crescente a partir de 7,0. Experimentamos outras marcas de peptona, repetindo-se o fenomeno com regularidade. Concluimos ser destituida de fundamento a recomendação daqueles pesquisadores da necessidade de se usar unicamente a « triptona » Difco no preparo de seu meio.

Uma vez afastada essa dificuldade foi-nos facil preparar o meio com varias peptonas, para comparar a sensibilidade do indicador de liquor de bismuto, sem a presença do sulfito, fonte de enxofre vista inadequada, contando agora unicamente com o enxofre das peptonas, quasi sempre suficiente á produção de H_2S e revelavel pelas técnicas anteriores. Na concentração de 0.7%, teôr utilisado no meio de Hunter & Crecelius, não se observou escurecimento da cultura ou este era apenas esboçado, e mesmo assim tardiamente.

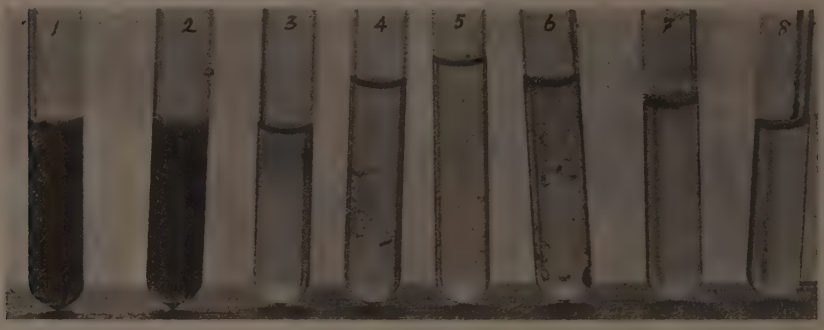
Utilisamos para analise da sensibilidade do liquor de bismuto como indicador da produção de H_2S um meio mineral adicionado de extrato de levedo « Difco » :

$K_2H\,P\,O_4$	0,02
Agar	0,5
Mannita	0,5
Extrato de levedo	0,5
Sol. sulfito de sodio a 20%, recentemente preparada	1,0 cc.
Liquor de bismuto	0,5 cc.
Agua a completar	100 cc.

Esterilisar a 115°, ajustando o pH a 6.8 antes da junção do liquor de bismuto. Os resultados obtidos com este meio se sobrepõem aos do meio de Hunter & Crecelius, mostrando a nenhuma interferencia da « tryptona Difco » como fonte sulfurigena porque os resultados foram identicos. A supressão do sulfito no meio mineral acima não deixou escurecer os tubos semeados com as bacterias que o escureciam com sua presença.

Permite o meio mineral acima o crescimento da maioria das bacterias patogenicas, incluindo aquelas em que a verificação da produção de H_2S tem sido utilisada na sua especificação. O metabolismo do sulfito pode ser aqui estudado sem interferencia de outros corpos sulfurados como as peptonas ou certos acidos animados, o teôr de enxofre total do extrato de levedo sendo de 0.143%, fica praticamente despresivel juntado como é na taxa de 0,5% ao meio. O enxofre organico não

oxidado (cistina) pesquisado no extrato de levedo seguindo a técnica aconselhada por Hawk (10) foi negativa.



Fotografia 1

N.º 1 — *Salmonella typhosa* 0 901.
N.º 2 — *Salmonella schotmülleri* 2947.
N.º 3 — *Salmonella paratyphi* 1015.
N.º 4 — *Escherichia coli.*
N.º 5 — *Shigella flexneri.*
N.º 6 — *Proteus* sp. 424.
N.º 7 — *Proteus* sp. 481.
N.º 8 — Testemunha (não semeado).

Demonstra a fotografia 1 as gradações de escurecimento observada no meio de Hunter & Crecelius. Frequentemente aparecem nos tubos semeados com certas bacterias, estrias mais ou menos escuras, até negras, esparsas na massa do meio, dispostas sem ordem, as quais não progridem nem difundem como o escurecimento observado com outras bacterias assinaladas como enegrecedoras no trabalho daqueles autores e que tambem verificamos. Quando o sulfito é decomposto, o meio sofre escurecimento uniforme, na parte do meio onde houve maior proliferação bacteriana, ficando limitado á parte superior ou difundindo-se por toda a massa do meio.

O escurecimento vae desde um tom pardo-acastanhado até quasi negro, conforme o avançamento da redução do sulfito. A existencia das estrias escuras não significam produção de H_2S e correm por conta, talvez, de sulfeto formado pela decomposição expontanea do sulfito ou da redução expontanea do bismuto. Em todo caso essa alteração deixa duvidas no espirito do analista quanto á presença de substancias reagindo sobre o bismuto (sulfeto ou hidrogenio sulfurados).

Verificada a impropriedade do emprego do liquor de bismuto e do sulfito, nenhuma duvida subsiste quanto á sensibilidade do bismuto como indicador para o H_2S produzido nas culturas bacterianas.

O meio com liquor de bismuto pode ser preparado com varias peptonas com resultados identicos como se verifica no quadro 2.

Quadro 2

Resultado do meio de Hunter & Crecelius preparado com várias peptonas.

Germens	Triptona Difco	Protcose Difco	Peptona Witte
Salmonella typhosa	+++	+++	+++
S. paratyphi	+	+	+
S. schottmülleri	+++	+++	+++
Proteus sp.	±	±	±
Proteus mirabilis	—	—	—
Escherichia coli	—	—	—
Shigella flexneri	—	—	—

Cotejamos ainda o meio de carbonato e o de citrato de bismuto amoniacal (liquor de bismuto), semeados com proteus e com brucelas, podendo-se verificar nitidamente a superioridade do carbonato sobre o liquor de bismuto (quadro 3).

Quadro 3

Produção de H_2S em meios com liquor de bismuto e com carbonato de bismuto.

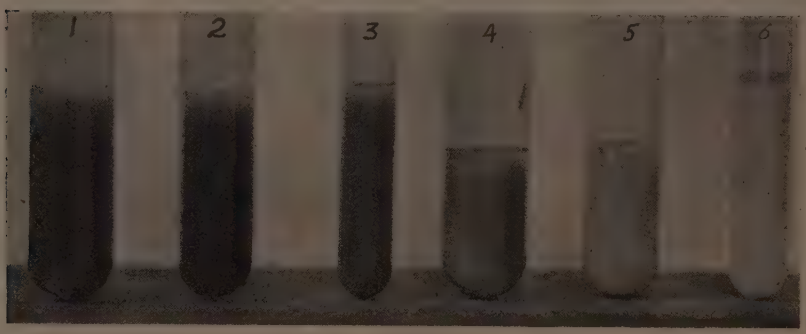
Germens	Meio de Hunter & Crecelius (com liquor de bismuto)	Meio de Pacheco & Mello (com cistina e carbonato de bismuto)
Proteus OX 19	—	+++
Proteus OX 2	—	+++
Proteus OXK	—	+++
Proteus OXL	—	+++
Proteus mirabilis 296	—	+++
Proteus vulgaris 158	—	+++
Proteus sp. 424	—	+++
Brucela paramelitensis 1	—	—
Brucela melitensis 4	—	—
Brucela abortus 6	—	+++
Brucela abortus 3	—	+++
Brucela suis 8	—	+++
Brucela suis 12	—	+++
Brucela suis 11	—	+++

Evidenciada a vantagem da cistina como fonte sulfurigena para produção de H_2S, permitindo utilizar-se qualquer peptona para fonte nutritiva das bacterias, preparamos o meio anteriormente proposto por nós da seguinte maneira:

Peptona	3,0
Agar	0,5
Cloreto de sodio	0,5
Carbonato de bismuto	0,5
Cistina	0,01
Agua	100 cc.

Os tubos contendo o meio de cultura ainda quente devem ser fortemente agitados e em seguida resfriados rapidamente para distribuição uniforme do indicador, que tende a depositar.

A fotografia 2 mostra os resultados de diferentes bacterias semeiadas neste meio.



Fotografia 2

Meio de Pacheco e Mello com cistina.

N.º 1 — *Proteus* sp. 481, isolado de fezes, da coleção do I. O. C.
N.º 2 — *Salmonella schotmülleri* 2947.
N.º 3 — *Proteus vulgaris*.
N.º 4 — *Salmonella typhosa* 0 901.
N.º 5 — *Salmonella paratyphi*.
N.º 6 — Testemunha (não semeado).

RELAÇÃO DAS AMOSTRAS UTILISADAS NAS EXPERIENCIAS

Salmonella typhosa 0-901, *S. paratyphi* 1.015, *S. schottmuelleri* 2.947, recebidas do Prof. F. Kauffmann;

Escherichia coli 295 (original de Escherich), *Shigella sonnei* 268, *Proteus mirabilis*, *P.* OX 19, P. O *P.* OXK, *Brucella melitensis*, da N. C. T. C.;

Shigella flexneri (*Sh. paradysenteriae* var. Flexner) amostra Oxford (N. C. T. C.), *Proteus* X L, recebidas do Dr. Carvalho Lima, de S. Paulo;

Proteus sp., isolada de féses no Instituto Oswaldo Cruz, n. 421 da nossa coleção;

Brucella paramelitensis, recebida do Prof. Mazza da Rep. Argentina;

B. abortus, recebida do Prof. Rosenbuch, Rep. Argentina;

B. suis amostras ns. 2 e John, recebidas de Huddleson, Estados Unidos;

B. suis, isolada por A. Penha, em S. Paulo.

DISCUSSÃO

A bioquímica fornece ainda um dos elementos fundamentais da sistematica das bacterias. Até certa época foi mesmo a base principal da especificação, tendo-se reconhecido desde cedo ser a morfologia um caráter de pequena significação para a distinção das especies bacterianas. Apesar do dominio crescente da analise antigenica e das recentes e futurosas investigações da química bacteriana sobre a especificação, o conhecimento da bioquímica, resumida nas alterações de natureza enzimatica principalmente, exercida pelas bacterias sobre os meios de cultura ou sobre substancias a estes adicionadas, guarda ainda destacado logar na especificação.

A pesquisa do hidrogenio sulfurado serviu a Huddleson (11) para distinção de brucelas, e sua presença é constante na putrefação ou decomposição das proteinas. Indicadores e métodos mais ou menos sensiveis fôram propostos para verificação de sua presença, sobresaindo deles, pela sensibilidade e facilidade de leitura dos resultados, o carbonato de

bismuto, proposto por Pacheco & Mello em 1932 (12). Ainda recentemente Wada (13) compara varios sais como indicadores de hidrogenio sulfurado — bismuto, ferro, chumbo, niquel, manganez, cobre e zinco, e conclue que o mais apropriado deles é justamente o bismuto.

Posteriormente Hunter & Crecelius propuzeram um sal de bismuto soluvel para indicador de produção de H_2S, o citrato de bismuto, num meio contendo sulfito de sodio como fonte sulfurigena. Encontraram Hunter & Crecelius dificuldades no preparo do meio com a superveniencia de um precipitado que ocorre raras vezes, dizes eles, com a « tryptona Difco ». Essa precipitação seria uma dificuldade introduzida na preparação do meio, acrescida a esta outra da obrigatoriedade do uso de determinado tipo de peptona para seu preparo, a tryptona Difco. Indagando os motivos dessa precipitação verificamos estar na dependencia estreita da alcalinidade do meio. De fato, em concentrações acima de pH 6,8 ia aparecendo no meio um precipitado, qualquer que fôsse a peptona utilisada na preparação (triptona e neopeptona Difco, peptona Witte, peptona Chapoteau).

O uso das peptonas como fonte sulfurigena unica apresentava inconvenientes pelo teôr variado de enxofre de sua composição, dependente ainda das varias partidas desse produto, mesmo dos melhores fabricantes. E talvez por isso mesmo adicionam aqueles pesquisadores uma fonte sulfurigena ao seu meio, em proporção determinada. Essa fonte sulfurigena se nos revelou impropria á pesquisa do H_2S, seja porque não ficou demonstrada, nem nos foi possivel apurar com segurança, si o corpo enegrecedor do citrato de bismuto daquele meio era H_2S ou o sulfeto, ambos podendo resultar da decomposição parcial do sulfito e reagindo sobre o bismuto com escurecimento, seja ainda porque esse corpo sofre decomposição expontanea. Os resultados obtidos com o meio de Hunter & Crecelius dependem certamente de uma propriedade peculiar a certo e limitado numero de bacterias, a capacidade decomponedora do sulfito, já vista por Wilson nos seus estudos sobre a aplicação do sal de ferro em meios seletivos para bacterias patogenicas intestinais. A impropriedade do sulfito ficara bem evidenciada nas pesquisas de Sasaki & Otsuka, e nas de Wilson. Tambem nossas observações demonstraram sua ineficiencia em revelar a presença de H_2S nas culturas de proteus e brucelas, bacterias reconhecidamente dotadas de capacidade produtora de H_2S.

A necessidade da junção de um assucar ao meio contendo sulfito pode depender da ação anticatalitica sobre a decomposição expontanea do sulfito descoberta por Bigelow, ou de influencias dependentes dos produtos resultantes da fermentação do assucar.

Não ha duvida que o escurecimento do meio resulta da decomposi-

ção do sulfito em sulfeto ou hidrogenio sulfurado, e a supressão do sulfito faz o meio perder a sensibilidade, apezar da presença do bismuto.

Hunter & Crecelius observam a formação de um precipitado no meio cuja causa atribuem a impurezas das peptonas, tendo nós apurado depender de uma precipitação ocorrida na zona de pH 7,0 para cima e crescendo com ele, não se observando com pH 6,8 para baixo. Assim pode o seu meio ser preparado com qualquer peptona.

O meio de Hunter & Crecelius serve exclusivamente á pesquisa da decomposição do sulfito de sodio pelas bacterias, de que pode resultar a formação de sulfeto ou hidrogenio sulfurado. Não se presta a provas da capacidade sulfurigena das bacterias.

Apurados os inconvenientes do meio com citrato de bismuto para pesquisa de H_2S, restava comparal-o como meio original de bismuto proposto por nós. Resultou do cotejo maior sensibilidade deste sobre o meio de Hunter & Crecelius. A opacidade do meio de Pacheco & Mello, que parece ter sido o motivo das tentativas daqueles pesquisadores com um sal soluvel para obter meios transparentes, embora não se refiram a ela diretamente, em nada impede a leitura do escurecimento, antes a nós nos parece vantajosa porque dispensa a leitura sobre fundo branco como no meio de Hunter & Crecelius. Demais, estes pesquisadores aconselham adicionar leite ás partidas do meio com precipitados referido acima, designando-o, então, meio II. A precipitação do meio II não o inutiliza para a pesquisa, vimol-o bem, e a junção de leite torna o meio tão opaco como o de carbonato. Si a opacidade fosse motivo de inutilidade de um meio para provas bioquímicas, o leite teria sido ha muito banido da rotina bacteriologica.

No meio transparente de Hunter & Crecelius ha precipitações escuras, sob forma de estrias, e escurecimentos parciais, que dificultam a leitura ou deixam duvidas nos resultados, inconvenientes não observados no meio opaco com carbonato de bismuto.

CONCLUSÕES

a) O sulfito de sodio é inapropriado como fonte de enxofre para produção de H_2S nas culturas bacterianas porque numero relativamente pequeno de bacterias é capaz de decompôl-o, e dentre elas não se incluem especies sabidamente sulfurigenas;

b) Podem resultar da decomposição do sulfito, sulfeto e hidrogenio sulfurado, ambos dotados da capacidade de escurecer o bismuto;

c) A necessidade de junção da manita ao meio, para aumentar a produção de H_2S, póde depender em parte da ação anticatalitica de Bigelow;

d) Outros assucares, além da manita, exercem a ação anticatalitica de Bigelow;

e) O meio com liquor de bismuto não revela a produção de H_2S por bacterias seguramente sulfurigenas: proteus e brucelas;

f) O liquor de bismuto se mostrou menos sensivel que o carbonato de bismuto para revelar a produção de H_2S pelas bacterias;

g) Ha dificuldades no preparo e na interpretação dos resultados no meio com liquor de bismuto, dificuldades não existentes com o carbonato de bismuto;

h) A precipitação das peptonas pelo liquor de bismuto é devida á alcalinidade do meio;

i) O meio de Hunter & Crecelius se presta apenas á prova de decomposição do sulfito de sodio pelas bacterias. Não se presta á pesquisa do H_2S.

DISCUSSION

Biochemistry still furnishes one of the fundamental elements in the determination of bacteria. Up to a certain time it was the principal basis of classification, for it was early recognised that morphology alone had little significance in the determination of species of bacteria. In spite of the growing importance of antigenic analyses and the recent and promising investigations of bacterial chemistry for classification, the findings of biochemistry, especially that dealing with the alterations of an enzymatic nature brought about by bacteria on culture media or on substances added thereto, still occupy an important place in classification.

The hydrogen sulphide test enabled Huddleson (11) to distinguish *brucella*, and its presence is constant in the putrefaction or decomposition of proteins. Indicators and more or less sensitive methods were proposed to ascertain its presence, the most successful of these, because of its greater sensitivity and greater facility in reading of results, being the bismuth carbonate proposed by us in 1932 (12). Recently Wada (13) compared various salts as detectors of hydrogen sulphide — bismuth, iron, lead, nickel, manganese, copper and zinc — and concluded that the

most appropriate is really the bismuth. The medium with bismuth carbonate was compared by Motta (11), with media employing lead and iron, the former always proving the most advantageous.

Later, Hunter & Crecelius proposed a soluble bismuth salt as indicator of the production of H_2S, i. e. bismuth citrate in a medium containing sodium sulphite as the sulphur source. Hunter & Crecelius found difficulty in the preparation of the medium because of the occurrence of a precipitate which they say is encountered rarely when « Tryptona Difco » is used. This precipitation constitutes a difficulty which must be added to that arising from the fact that a certain type of peptone must be used in the preparation of the medium, Tryptona Difco. Searching for the cause of this precipitation we found that it was closely related to the alkalinity of the medium. In fact, in concentrations with a pH above 6.8 the precipitate begins to appear in the medium, increasing with the pH, while at 6.8 and below no turbidity occurs, no matter what the peptone used in the preparation (tryptona or neopeptona Difco, peptone Witte, peptone Chapoteau).

The use of peptones as sole source of sulphur presented difficulties because of the unequal sulphur content in various lots put out by even the best manufacturers. And perhaps it is because of this that the authors cited add a sulphur source to their medium in known quantities. This source of sulphur seems to us inappropriate for the search of H_2S, first, because it was not demonstrated nor was it possible for us to ascertain with accuracy whether the darkening agent of the bismuth citrate in the medium was the H_2S or the sulphide, it being possible for both to result from the partial decomposition of the sulphite and react on the bismuth with darkening; and second, because the bismuth may undergo spontaneous decomposition. The results obtained with the medium of Hunter & Crecelius actually depend on a property which is peculiar to a certain and limited number of bacteria, that is, the decomposition of the sulphite already shown by Wilson in his researches on the use of iron salts in selective media for intestinal pathologic bacteria. The inappropriateness of sulphite was well shown in the researches of Sasaki & Otsuka and in those of Wilson. Our observations also demonstrated its inefficiency in revealing the presence of H_2S in cultures of *Proteus* and *Brucella*, bacteria which are well known for their hydrogen sulphide production capacity.

The necessity for the addition of a sugar to the medium containing sulphite may depend on the anti-catalytic action on the spontaneous decomposition of the sulphite, discovered by Bigelow, or on influences exerted by the fermentation of the sugar.

There is no doubt that the darkening of the medium is due to the

decomposition of the sulphite into sulphide or hydrogen sulphide, and the suppression of the sulphite results in the loss of sensitivity of the medium in spite of the presence of bismuth.

Hunter & Crecelius observed the formation of a precipitate in the medium which they attributed to impurities in the peptones, whereas we ascertained that it occurs only in the range of pH 7.0 upwards, increasing with the pH, and that it does not occur from pH 6.8 downwards. Their medium therefore, may be appropriate with any peptone.

The medium of Hunter & Crecelius serves exclusively for the study of the decomposition of sodium sulphite by bacteria, from which the formation of sulphide or hydrogen sulphide may result. It is not suitable for experiments on the sulphur producing power of the bacteria.

Once the disadvantages of the medium bismuth citrate in testing for H_2S were ascertained, we compared it with the original bismuth medium proposed by ourselves, and the latter proved more sensitive. The opacity of the medium of Pacheco & Mello which seems to have given rise to the experiments of Hunter & Crecelius with a soluble salt in order to obtain transparent media, although they do not refer to this directly, does not hinder the reading of the degree of darkening, but rather seems to us more advantageous because it renders unnecessary reading the result against a white background as in the medium of Hunter & Crecelius. Furthermore, these workers advise adding milk to the lots of medium with the precipitates referred to above, calling it, then, Medium II. Precipitation in Medium I does not invalidate it for experiments, as we have seen, and the addition of milk renders the medium as opaque as that carbonate. If opacity rendered a medium useless for biochemical tests, milk would long since have been banished from bacteriological routine.

In the medium of Hunter & Crecelius there occur streaks of dark precipitate, and partial darkening, which hinder the reading or leave one in doubt as to the results, difficulties which do not arise when using the opaque medium with bismuth carbonate.

CONCLUSIONS

a) Sodium sulphite is inappropriate as source of sulphur for the production of H_2S in bacterian cultures because only a relatively small number of bacteria are capable of producing its decomposition and among them are not included admittedly sulphur-producing species;

b) From the decomposition of the sodium sulphite, sulphide and hydrogen sulphide may occur, both of which may darken the bismuth;

c) The necessity of adding mannite to the medium in order to increase the production of H_2S may depend in part of Bigelow's anti-catalytic action;

d) Other sugars, beside mannite, also exercise Bigelow's anti-catalytic action;

e) The medium employing bismuth liquor does not reveal the production of H_2S by bacteria which are surely sulphur-producing *proteus* and *brucella*;

f) Bismuth liquor was shown to be less sensitive than bismuth carbonate in revealing the production of H_2S by bacteria;

g) There are difficulties in the preparation of the medium with bismuth liquor and in the interpretation of the results obtained, which do not occur when bismuth carbonate is used;

h) Precipitation of the peptones by the bismuth liquor is due to the alkalinity of the medium;

i) The medium of Hunter & Crecelius is useful only in tests of decomposition of sodium sulphite by bacteria. It is not useful in tests for the presence of H_2S in bacterian cultures.

BIBLIOGRAFIA

1 Wohlgemuth, J.
Zeit. f. phys. Chem., **43** : 641.

2 Sasaki, T. & Otsuka, I.
1912. Biochem. Zeitsch., **39** : 208.

3) Tilley, F. W.
1923. Journ. Bact., **8** : 287.

4. Tanner, F. W.
1917. Journ. Bact., **2** : 585.

5) Hunter, C. A. & Crecelius, H. G.
1938. Journ. Bact., **35** : 185.

6. Wilson, W. J.
1923. Journ. Hyg., **21** : 392.

7 Bigelow
1898. Zeitsch. phys. Chem., **26** : 493.

8) TITOFF

1903. Zeit. phys. Chem., **45** : 662.

9) BREDIG

1931. *In* Ullmann, Enciclopedia Quim. Ind., Barcelona, **1**.

10) HAWK, P. B. & BERGEIM, O.

1937. Pract. Phys. Chem. 11 ed., Philad.

11) HUDDLESON, I. F. & ABELL, E.

1927. Journ. Bact., **13** : 13.

HUDDLESON, I. F.

Mich. St. College, Agric. Exp. Sta., Tec. Bull., **100**.

12) PACHECO, G. & MELLO, J. T.

1932. Comp. rend. Soc. Biol., **110** : 131.

13) WADA, S.

1936. Zent. f. Bakt., ref., **121** : 448.

14) MOTTA, L. M. J.

1934. Bras. Med., **14** : 244.

Mosquitos e virus da febre amarela *

pelo

Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão

Chefe de Serviço do Instituto Oswaldo Cruz

(Com tradução em inglês)

I

A FEBRE AMARELA URBANA E A SILVESTRE SÃO MOLESTIAS DIFERENTES?

Datam de uns 60 anos as primeiras referencias relativas á presença, em nosso continente, de uma nova forma de febre amarela, diferente da que era conhecida nele, nos dois séculos anteriores, pois grassava nas matas ao em vez de ocorrer nas cidades e povoações, reconhecendo-se ainda que ela podia contaminar os individuos durante o dia e era transmitida por mosquitos silvestres, porquanto o *Aedes aegypti* não existia nos seus fócos. Este tipo de febre amarela silvestre, era por tais caracteres, bem diferente da molestia classica até então conhecida, que imperava nas cidades e localidades costeiras ou do interior em que existia o *Aedes aegypti*, mosquito vulgarmente conhecido por estegomyia.

A forma silvatica da febre amarela foi assinalada na America, pela primeira vez em 1887, por Camio e Ortiz em pequenos fócos na mata nas localidades, Abapó, El Espino e Muchuri, ao sul de Santa Cruz de la Sierra, na Bolivia. Cerca de dez anos depois, ha referencias de Lutz a casos na mata em Funil, perto de Campinas e tambem na zona de Taboão, perto de Taubaté, o Serviço Sanitario de São Paulo descobriu em 1904, casos de febre amarela, não sendo encontrados estegomyias nos locais em que estavam os doentes. Em 1907 é bem caracterisado um fóco de febre amarela silvestre que se tornou classico, nas minas de esmeraldas de Musso, na Colombia, onde a molestia se manteve com interrupções até hoje. Este fóco foi bem estudado pelos médicos colombianos. Franco, Martinez, Santa Maria e Toro de Vila, os quais não só

* Recebido para publicação a 29 de Agosto de 1939 e dado á publicidade em Dezembro de 1939. Memoria apresentada ao 3º. Congresso Internacional de Microbiologia. New York. Setembro de 1938.

identificaram a molestia que aí grassava como sendo febre amarela, como tambem notaram ser adquirida durante o dia e ter por transmissores mosquitos da mata e o estegomyia. Ulteriormente se reconheceu que houve confusão por parte de Franco em relação ao estegomyia, pois este mosquito não existe em Musso, como está hoje provado pelos trabalhos aí feitos pela Comissão Rockefeller, devendo ter sido confundido com o *Aedes aegypti* algum mosquito rajado da mata. O fóco observado nas minas de Musso é particularmente interessante por ser completamente segregado e não haver contato do pessoal, que aí trabalha isolado, com qualquer outro ponto proximo em que eventualmente reinasse febre amarela urbana. Estes primeiros trabalhos referentes á existencia de uma febre amarela de caráter silvestre nesses fócos limitados, não chamaram especial atenção dos médicos e higienistas de então, além das constatações das comissões que os foram estudar e o assunto permaneceu no olvido até data bem recente.

No Brasil, depois das referencias ao assunto em S. Paulo, nada mais se observou durante cerca de 30 anos. Por outro lado devido ás profilaxias antiestegomicas executadas nas cidades pelos serviços de higiene, a febre amarela urbana classica, desapareceu quasi por completo, do continente americano, apenas permanecendo muito apagada na zona do Nordeste brasileiro, onde ela persistia sob sua forma rural, sempre condicionada á presença do estegomyia. A diminuição da febre amarela durante um largo periodo, fez com que o assunto perdesse muito do seu interesse primitivo, chegando-se mesmo a pensar, em dado momento, que ela tivesse por completo desaparecido do continente. Não durou, porém, muito tempo tal suposição e em breve o mal reapareceu nas suas formas habituais urbana e rural, em consequencia da remessa de tropas constituidas por soldados não imunes contra a febre amarela, para as regiões do nordeste do país, onde ela acompanhando as forças militares em movimento, foi subindo o vale do São Francisco e chegou a Pirapóra, em Minas, em 1926, e nesta cidade causou um surto urbano que foi extinto com medidas de profilaxia anti-estegomica.

Em 1928 inesperadamente surgiu a febre amarela classica outra vez, na cidade do Rio de Janeiro, donde ha 20 anos havia desaparecido, espalhando-se depois, sempre sob a forma urbana por 44 localidades do Estado do Rio e algumas dos Estados de Minas, São Paulo e Pará, para desaparecer totalmente no ano seguinte, depois de dar alguns milhares de casos na cidade do Rio de Janeiro e nos demais pontos do País.

Nenhuma referencia houve então á ocurrencia da forma silvestre em consequencia desse surto tão extenso da molestia urbana classica, o que não deixa de ser surpreendente, quando se pensa que nessa ocasião

a febre amarela esteve em 11 localidades, só no Estado do Rio, e que, em muitas delas, a mata se extende até os limites urbanos. Note-se que todas as zonas desse Estado estavam então sob estreita vigilancia das autoridades sanitarias, que descobriram esses numerosos fócos urbanos e as quais certamente não escaparia qualquer mal insolito grassando nas suas matas. Tambem não houve então nenhuma verificação de mortandade em macacos bugios nas florestas, fato hoje tão comum e regra que não sofre excepção nos logares em que pela primeira vez reina a febre amarela silvestre.

Foi a partir de 1932 que recomeçaram as referencias sobre a existencia da febre amarela silvestre, com a descoberta no vale do vale do Chanaan, no Espirito Santo, de casos de uma molestia suspeita em plena mata, numa região de habitações isoladas e na ausencia do *Aedes aegypti*. A Comissão Rockefeller identificou então perfeitamente o mal, como sendo febre amarela, pelas suas manifestações clinicas e pelo isolamento do virus em macacos e camondongos.

De então para cá o assunto assumiu grande importancia com o aparecimento da molestia com amplo e inesperado desenvolvimento em varias zonas, especialmente no sul do Brasil e tambem na Colombia e Bolivia, e mais tarde em Venezuela, Paraguay, etc., onde ela tem sido objeto de acurado estudo por parte da Comissão Rockefeller, pelos tecnicos dos Serviços Sanitarios dos estados atingidos, pelos tecnicos do Instituto Oswaldo Cruz e por varios médicos interessados no assunto.

De 1935 até os primeiros mêses de 1939, os surtos de febre amarela silvatica se sucederam nos Estados do sul do Brasil, em Mato Grosso, Goiaz, São Paulo, Minas, Paraná, E. do Rio, Sul do Espirito Santo, Santa Catarina e póde-se, sem medo de erro, orçar por dezenas de milhares os casos havidos neles, si considerarmos que as manifestações benignas da doença, as quais em geral escapam a um diagnostico preciso, são 10 a 20 vezes mais numerosos do que os casos clinicamente diagnosticaveis com segurança. Não deve ter havido menos de 2 mil óbitos nesse periodo, se atentarmos que, os diagnosticados pos viscerotomia e autopsia não representam o total deles, pois nem todos no interior são susceptiveis de um controle regular de médicos e sanitaristas.

O consenso quasi geral dos médicos que têm observado cuidadosamente a molestia silvestre e especialmente daqueles que lidaram com a antiga febre amarela das cidades, em outros tempos, é que a molestia silvatica não se diferencia da urbana transmitida pelo estegomyia, quer pelas suas manifestações clinicas, quer pelas lesões anatomo e histopathologicas ou pelas reações de imunidade, etc., e que tão sómente a epidemiologia é muito diferente num e noutro caso. Ha quem alegue ser

a molestia silvestre mais benigna que a antigamente verificada nas cidades o que a observação dos surtos atuais não justifica muito e, mesmo que assim sucedesse, não seria argumento decisivo para se considerar, só por isso, as molestias diversas, da mesma forma que não são diferentes a escarlatina e a difteria no Rio e São Paulo, embora sejam muito mais benignas na primeira do que na segunda dessas cidades. Alegam outros, procurando diferenças entre a molestia urbana e a silvestre que esta não tem tendencia para entrar numa localidade em que haja estegomyias. Ora, está hoje perfeitamente verificado que o virus silvestre evolue nos mosquitos da mata e tambem no estegomyia, não devendo por isso haver qualquer impedimento para a passagem da molestia da mata para as cidades, desde que venham ter a estas, doentes em condições de infetar os mosquitos, o indice estegomico seja alto e as condições de temperatura favoraveis á transmissão da molestia pelo *Aedes aegypti*. Aliás o que a observação demonstrou em varias localidades, quando tais condições prevaleceram nelas foi justamente a passagem do virus da mata para a cidade, como ocorreu em Cambará, no Estado do Paraná; em Figueira, no Estado do Espirito Santo; em Theophilo Ottoni, no Estado de Minas e em Presidente Venceslau, no Estado de São Paulo. Nesta ultima cidade, cujo indice estegomico era elevado na ocasião em que a molestia silvestre surgiu nos seus arredores, formaram-se em começos de 1937, dois fócos urbanos que deram varios casos em pessoas que não sairam da localidade, sendo que de um deles o mal irradiou da maneira classica de antigamente de uma pensão a que vieram ter doentes em fase infetante da molestia, originarios das matas proximas como muito bem verificou o Dr. Idt Pontes, chefe do serviço estadual de febre amarela no setor a que pertencia a localidade em apreço. Si atualmente são menos frequentes essas penetrações da febre amarela silvestre nas cidades das zonas em que ela grassa, é devido em grande parte, á baixa rapida dos seus indices estegomicos feita pelos serviços de profilaxia da febre amarela logo que surge o mal, e tambem muitas vezes porque a temperatura um tanto baixa não permite mais a transmissão do virus pelo estegomyia, mas ainda é suficiente para que ele seja veiculado pelos mosquitos da mata que são menos exigentes relativamente ao gráo térmico, não só para viverem, como tambem no que respeita a transmissão da molestia.

E' bastante surpreendente que quando ocorriam todos os anos surtos urbanos de febre amarela em diversas localidades costeiras e do interior e que os médicos e até os leigos a conheciam bem, não houvesse sido ela frequentemente assinalada nas matas, salvo nos raros e muito limitados fócos em que foi primeiramente descoberta ha muitos anos, o

que talvez seja a prova de uma adaptação ainda imperfeita do virus urbano aos mosquitos da mata, mantendo-se por isso os fócos limitados.

As matas e fazendas eram então frequentadas por muita gente vinda das cidades em que reinava o mal e que ia para elas para suas ocupações ou divertimentos, como caça, passeios, pescarias, etc. Merece especial menção que houvesse sido realisada nos estados do sul do Brasil, especialmente nos do Rio, Minas e São Paulo, toda esta portentosa labuta de desbravamento da mata virgem para o plantio de bilhões de cafeeiros, numa época em que as matas e seus animais eram muito mais abundantes do que hoje e não se houvesse então assinalado surtos da febre amarela silvestre. As fazendas do planalto dos vales do Paraíba, da mata de Minas e as de São Paulo eram considerados logares salubres, não constando que houvesse nelas surtos de febre amarela silvestre de larga proporção com os caracteres dos atuais, embora as cidades e localidades proximas fossem assoladas repetidamente por dizimadoras epidemias de febre amarela urbana como sucedeu por exemplo em Cantagalo, Vassouras, Valença, Juiz de Fóra, Barra do Piraí, Barra Mansa, Areias, Campinas, Ribeirão Preto, Rio Novo, São Simão, Rio Claro, Sorocaba e tantas outras. Acresce que a partir de 1888, com a abolição da escravatura no Brasil estabeleceu-se uma larga corrente emigratoria européia que trouxe para as fazendas do interior mais de um milhão de individuos sensiveis á febre amarela, em pouco mais de um decenio. Nas zonas rurais do sul, esses imigrantes, embora estivessem sempre em estreito contato com a mata devido aos seus afazeres, nunca foram vitimas da febre amarela silvestre, ao passo que se iam e demoravam uma noite que fosse nas cidades onde o mal reinava, eram frequentemente atacados pela molestia urbana que os vitimava em larga escala. Justamente as matas e fazendas serviam de refugio antigamente ás populações das cidades assoladas pela febre amarela quando o mal tornava-se muito intenso e apesar disso não havia propagação da molestia aos mosquitos, aos animais silvestres ou aos individuos sensiveis existentes nas zonas rurais.

Si por ocasião dessas fugas em massa chegavam individuos atacados da molestia ás zonas rurais, o mal aí se extinguia sem que se observasse então nenhuma propagação dele ás matas, o que deveria ser observado si o virus urbano fosse facilmente adaptavel á transmissão por mosquitos silvestres. Tambem merece especial reparo que não fosse assinalada, então, mortandade de macacos bugios (*Allouata*), fato tão comum hoje e índice seguro da existencia do mal silvestre a que eles são sensiveis. Si ocorressem então tais epizootias elas não passariam certamente despercebidas aos trabalhadores e caçadores que vão ás matas e que

sendo bons observadores dos animais que as habitam, certamente as teriam assinalado como hoje acontece, por toda a parte onde a molestia aparece pela primeira vez. Hoje sucede justamente o contrario, sendo constantes em todos os fócos de febre amarela silvestre a referencia a mortandades de macacos nas matas por parte dos habitantes das zonas rurais. A mortandade dos bugios quasi sempre, precede mesmo o apparecimento dos casos humanos. Nas matas em que grassa a febre silvestre, os bugios que não morrem ficam por longo tempo silenciosos como que apavorados pelo mal insolito que existe nelas, e este fato teria egualmente chamado a atenção dos moradores próximos, habituados ás suas roncarias quasi diarias.

Não menos evidente era a absoluta falta de imunidade que se observava antigamente para a febre urbana e hoje para a molestia silvestre de parte dos habitantes das matas e fazendas do interior, no sul do Brasil, em São Paulo, Minas, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina, qualquer que fosse sua edade, demonstrando que tanto numa época como na outra nem a febre urbana se propagava ás matas, nem a silvestre de agora já havia antes se disseminado nelas.

Os filhos de fazendeiros, estudantes e trabalhadores rurais que vinham antigamente do interior, Minas, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, etc., para o Rio ou Santos, cidades em que o mal existia endemicamente ou qualquer outro fóco da molestia, pagavam pesado tributo á febre amarela. No entanto eles tinham passado grande parte da sua existencia em contato frequente com as matas das regiões que habitavam sem que aí lhes tivesse advindo qualquer imunidade para a febre amarela, o que seguramente não aconteceria se tivessem tido antes um ataque da molestia por benigno que fosse.

E' frisante o contraste entre a sensibilidade á febre amarela observada nos habitantes das zonas rurais do sul do Brasil em que a molestia grassava sómente nas cidades, comparada com o alto gráo de resistencia das populações rurais do nordeste, região do Brasil onde além da febre amarela urbana existe tambem a forma rural transmitida pelo estegomyia e tão bem constatada e descrita por Sebastião Barroso ha 28 anos. A explicação para tal ocurrencia se encontra em que a febre amarela urbana do sul, não manifestava tendencia para invadir a zona rural onde não havia estegomyia, ao passo que no nordeste, a temperatura egual e elevada durante todo o ano que aí reina, e o habito das populações de acumularem agua dentro das casas rurais, permitia que a febre amarela transmitida por esse inseto, aí permanecesse e se disseminasse, conferindo aos seus habitantes o alto gráo de resistencia observado. Como consequencia da imunidade assim adquirida decorria o fato dos

habitantes das zonas rurais do nordeste brasileiro poderem vir impunemente ás cidades onde reinasse a febre amarela, ao passo que os das zonas analogas do sul do país morriam em grande numero, vitimas do mal, quando se aventuravam pelas localidades em que ele grassava. Tambem não referem os moradores das zonas recentemente invadidas pela febre amarela silvestre como observamos nos arredores de São Paulo e na Serra de Mogí das Cruzes, onde não ha paludismo, que em outras épocas tivesse aí grassado alguma entidade nosologica com o aspeto daquela atualmente observada, sendo tambem desconhecidas antes as mortandades de bugios como ocorrem agora.

Si a molestia silvestre fosse um mal frequente nas matas dos estados do Sul agora assolados, ela teria causado antigamente, como hoje o faz, grandes epidemias rurais e permaneceria nelas após a extinção dos fócos urbanos, dando de vez em quando não só surtos silvestres, mas tambem penetraria nas cidades próximas, com os altos índices estegomicos que estão existiam na época em que se ignorava o papel transmissor do mosquito. Ora tal fato que deveria ser um aspeto epidemiologico comum só foi observado agora depois que a febre amarela que se adaptou aos mosquitos silvestres se tornou um mal frequente no sul do Brasil.

Merece especial referencia o fato de não ter a febre amarela urbana durante as epidemias de 1928 e 1929 dado logar a uma onda de febre silvatica no Estado do Rio, por exemplo, no qual foi constatada sua presença em 44 localidades do interior, tendo havido milhares de casos benignos além das centenas de formas graves verificadas, a julgar pelo resultado das provas de proteção levadas a efeito pela Comissão Rockefeller em Cambucí, Magé, Santo Aleixo, etc., nas quais os casos pouco aparentes da molestia abrangeram cerca de 60% dos habitantes dessas vilas como demonstram as provas de proteção denunciadoras da imunidade adquirida por um ataque anterior de febre amarela. Assinale-se de passagem que, em Magé e Santo Aleixo e em algumas outras localidades do Estado do Rio, a mata praticamente se estende até o perimetro urbano e que elas estão situadas em zona quente com muitos mosquitos, do territorio fluminense. Apesar de todas estas condições favoraveis, não houve nestas localidades nem em outros pontos dos Estados do Rio, Minas, São Paulo, etc., a invasão das matas pela febre amarela urbana de então, nem foi assinalada mortandade de bugios (*Alouata*), apesar das condições existentes extremamente favoraveis para que o mal se transformasse de estritamente urbano em silvestre. Por outro lado, no nordeste do Brasil, onde existiu sempre a febre amarela sob o seu aspeto raral que perambula pelos pequenos logarejos do interior e é

transmitida sómente pelo estegomyia, tambem nunca se transformou ela em molestia silvestre, embora em certos pontos do Estado dessa zona houvesse matas com mosquitos e animais silvestres, aos quais a molestia se poderia facilmente propagar.

De tudo que acabamos de expor, resulta que tanto nas zonas urbanas como na rural e tambem nas matas a febre amarela póde grassar com aspetos epidemiologicos diversos, mas sendo sempre a mesma entidade morbida sob o ponto de vista das suas manifestações clinicas, lesões, reações imunologicas, etc.

Somos de opinião que a febre amarela urbana e a rural são transmitidas sómente pelos estegomyia, não mostrando por isso nenhuma tendencia a se propagar ás matas, ao passo que a febre amarela silvestre deve ser considerada como fruto de uma adaptação do virus a outros mosquitos além do *Aedes aegypti*, os quais vivendo habitualmente nas matas, tornaram possivel a sua propagação nelas, sob a forma silvatica atual. Talvez essa adaptação do virus urbano aos mosquitos não se tenha dado ha muito tempo pelo menos no continente americano, pois os primeiros fócos da febre amarela silvestre foram observados ha 60 anos e só agora a molestia parece estar tomando maior incremento no que é favorecida pela intensa circulação humana que se observa no interior do país após a construção de estradas e circulação de automoveis. E' dificil dizer si esta adaptação do virus aos mosquitos silvestres se processou lentamente ou de um modo brusco por mutação. E' possivel que tal adaptação em gráo maior ainda se esteja processando porque alguns mosquitos silvestres como observamos com a *Psorophora discrucians*, conservam o virus apenas por 8 dias; outros autores verificaram que que nas Mansonia por exemplo o virus se multiplica bem, mas não é transmitido pela picada do inseto, ao passo que os *Aedes*: *scapularis*, *fluviatilis* e *leucocelanus*, o *Hemagogus capricorni*, etc., se infetam bem e transmitem a molestia pela picada como sucede com o estegomyia.

No que respeita ao *Aedes scapularis*, merece especial registro que *Marchoux*, *Simond* e *Salimbeni*, no Rio de Janeiro, em começos deste século (Ann. Inst. Pasteur, 1906 - Tomo 16) não tivessem conseguido obter a transmissão do virus classico urbano por esse mosquito, quando se sabe hoje que essa especie se coloca na primeira linha entre os mosquitos silvestres que se infetam e transmitem por picada. E note-se que as experiencias de Marchoux e seus colaboradores foram feitas nas melhores condições, pois os *Aedes scapularis*, com que eles experimentaram, sugaram sangue de um doente de febre amarela no inicio da fase infetante, estiveram depois 13 dias á temperatura de 27° findo os quais 4 desses insetos picaram sem sucesso um individuo não imune como foi

constatado, submetendo-o ulteriormente á infecção amarilica por estegomyia, a qual resultou positiva.

Antes dessa adaptação do virus silvatico a varios mosquitos, o estegomyia foi provavelmente o unico transmissor da febre amarela, como parece demonstrar o fato de não se haver observado durante 2 séculos até data não muito distante, a propagação da molestia ás matas, o que seria tão facilmente constatado como o foi nos primeiros fócos observados nos sertões isolados e distantes da Bolivia, e nesse fóco tão limitado de Musso, etc. Ora, si nesses logares longiquos a febre amarela foi logo diagnosticada, embora não existissem muitos casos, com mais forte razão ela o seria si ocorresse sua disseminação na zona cafeeira do sul do Brasil que abrangia milhares de kilometros, possuia numerosas cidades em que reinava periodicamente o mal urbano em grandes surtos, mezes a fio, e onde havia muitos medicos competentes e conhecedores do mal. As matas de então eram intensamente trabalhadas para o plantio do café e, se nas numerosas turmas de derrubadores delas, surgisse a febre amarela silvestre com o aspeto atualmente observado, certamente a molestia não escaparia a um diagnostico seguro, pois chamaria a atenção de todos, leigos e medicos, especialmente nas zonas salubres dos Estados do Rio, Minas e São Paulo, onde não havia o impaludismo tropical grave, para causar confusão com ela. E note-se que si hoje a existencia de uma febre amarela nas matas choca um pouco aqueles que não atentam para essa adaptação do virus aos mosquitos silvestres, antigamente com as doutrinas de contagio miasmatico não haveria nenhuma dificuldade para admitir que a molestia que grassava nas cidades pudesse tambem constituir fócos nas matas. Pois máo grado todas essas condições favoraveis existentes numa extensissima zona do Brasil, devido ao grande desenvolvimento da lavoura cafeeira em 3 dos Estados do sul do país, não houve neles durante o longo periodo de mais de meio século, até bem recentemente, nenhuma referencia a surtos de febre amarela silvestre. Era uma área de centenas de milhares de kilometros quadrados, coberta de densas matas virgens e lavouras onde trabalhavam mais de 1 milhão de homens; não faltavam nela mosquitos e macacos sensiveis (Allouata), havia um intenso intercambio entre as cidades e localidades dessa região e a zona rural e embora em muitos desses nucleos de população a febre amarela grassasse periodica e repetidamente, a molestia urbana não se propagava ás matas nem espalhava-se por elas transformando-se em mal silvestre. Hoje que ha muito menos matas e macacos

e a população em numerosas zonas rurais é mais escassa devido a extinção das lavouras cafeeiras e, na ausencia da molestia urbana, nós vemos a febre amarela silvestre avassalar toda essa extensa zona que antigamente esteve indene, como demonstrava a grande sensibilidade dos seus habitantes rurais á febre amarela, quando iam ás cidades em que reinasse o mal, o que não aconteceria si eles tivessem tido um ataque anterior dele, por benigno que fosse.

A adaptação do virus amarilico urbano aos mosquitos silvestres permitindo sua propagação ás matas, nada tem de inaceitavel, numa éra em que se assiste a adaptações e desadaptações dos parasitos da malaria a certos anophelinos, em varias partes do mundo e que têm sido tão bem estudadas em relação ás variedades do *Anopheles maculipenis*, cujos caracteres diferenciais são minimos, ás vezes só notaveis nos ovos desses mosquitos. Por pequenas que sejam as modificações estruturais observadas elas são no entanto suficientes para que produzam profundas alterações na epidemiologia da malaria, fazendo com que a molestia se desenvolva largamente em certas regiões e desapareça de outras em que já grassou intensamente, conforme os hematozoarios sejam ou não adaptaveis á variedade do *Anopheles maculipenis* existente. Outras adaptações e desadaptações diversas de parasitos e virus aos seus transmissores, certamente se tem processado no correr dos tempos.

Devido ás medidas de profilaxia antiestegomica executadas em larga escala no Brasil, pelos serviços de febre amarela, a molestia urbana e a rural transmitidas pelo estegomyia, se tem restringido muito, senão estão de todo extintas, sendo seus ultimos grandes surtos os ocorridos na capital da Republica, no E. do Rio de Janeiro e em outros estados do Brasil em 1928 e 1929. A febre amarela silvestre ou silvatica ao contrario, vem tomando cada vez maior expansão, tanto no Brasil como nos outros países sulamericanos e na Africa, estendendo-se nesses continentes cada vez mais e constituindo hoje séria ameaça para o mundo, pois é possivel sua propagação a outras terras americanas, européas e asiaticas ainda indenes, mas em que abundam mosquitos urbanos e silvestres que são capazes de transmitil-a. Hoje que as comunicações humanas se estão tornando mais rapidas e mais frequentes, graças aos automoveis e aviões, o perigo aparece cada dia mais premente. E' de esperar, porém, que os serviços de combate ao mal se tornem por sua vez mais eficientes e que sobretudo a vacinação, feita em larga escala, venha afinal deter a marcha deste terrivel flagelo da humanidade.

II

A INFLUENCIA DA TEMPERATURA NA EPIDEMIOLOGIA DA FEBRE AMARELA TRANSMITIDA PELOS MOSQUITOS DA MATA E PELO *AEDES AEGIPTI*

Constitue motivo de surpresa para aqueles que vêm observando a evolução das epidemias recentes de febre amarela silvestre, de 1934 a 1937, nas zonas de planalto, nos Estados de S. Paulo, Goiás, Minas e Paraná, em altitudes de cerca de 500 a 1.000 metros, o fato de não se formarem fócos de febre amarela nas cidades infestadas com estegomyias, as quais têm vindo e permanecido doentes das matas, nos tres primeiros dias da molestia.

Alguns quizeram ver nessa ocurrencia a prova de que a febre amarela extra-urbana, silvestre, era diferente da febre amarela urbana classica. Nada autoriza uma tal suposição e é na propria biologia do estegomyia que se encontra a solução para este aspeto epidemiologico um tanto desconcertante mas perfeitamente explicavel. Atente-se que o optimum vital do estegomyia se encontra entre 27° e 32° e que de 25° para baixo ele já começa a manifestar uma atividade mais reduzida com retardamento de todas as funções, traduzindo-se pela menor avidez para sugar, na demora da evolução, postura, fase larvaria, ninfal, atividade procreadora dos adultos, etc. Entre temperaturas de 22° a 23° por exemplo a postura pode levar 20 a 30 dias para ter logar, e as larvas têm uma evolução muito lenta; abaixo de 17° pode-se dizer que cessam todas as atividades vitais do mosquito e ele está condenado a desaparecer.

O estegomyia é por excelencia o mosquito dos logares de temperatura quente, oscilando entre 27° e 32°, e se mostra sempre muito sensivel ás baixas temperaturas e decorre daí que, nos climas de planalto nos Estados de São Paulo, Goiás, Minas e Paraná, onde as médias de verão oscilam entre 22° a 24° e raramente mais, os estegomyias vivem em condições que não são as mais favoraveis ao seu ciclo vital normal. Eles têm por isso menos tendencia a picar, fazem posturas demoradas, ao cabo de 20 dias e mais; dos seus ovos saem larvas 20 dias depois de postos, e se retardam igualmente as suas fases larvaria e ninfal como demonstram as experiencias classicas de Marchoux, Salimbeni e Simond. Em tais condições, si o mosquito suga uma vez e leva 18 a 20 dias para fazer a primeira postura, quando a termina já está quasi no extremo de sua vida na natureza e não volta a sugar. Por outro lado uma temperatura baixa tem uma ação igualmente acentuada sobre a multipli-

cação do virus no mosquito reduzindo-a e impedindo que ele chegue ás glandulas salivares e possa ser transmitido pela picada. Com temperaturas altas é possivel obter que o estegomyia transmita o virus em 4 a 5 dias, mas as interessantes observações de Davis ensinam que, a 25°, esse mosquito requer 8 dias para transmitir a febre amarela; a 23°,4 o prazo se amplia para 11 dias; a 21° são necessarios 18 dias e a 18° o mosquito praticamente não infeta mais, pois, ainda ao cabo de 30 dias, sua picada permanece ineficaz, embora o virus fique nele num estado de hibernação, pois si se o coloca por mais 6 dias a 36°, volta a transmitir a febre amarela quando suga.

O tempo de vida de um mosquito na natureza e no clima geral de S. Paulo, sofrendo todos os riscos e intemperies e a influencia de grandes variações de temperatura que oscilam entre 12° a 20° no mesmo dia e são frequentes no Estado, não deve ir além de 20 a 25 dias, si tanto.

E' sabido que repercutem especialmente sobre a vitalidade do mosquito e lhe são particularmente prejudiciais, essas baixas da temperatura noturna tão comuns em S. Paulo e em outros logares do planalto brasileiro no verão, e que levam o termometro a 16° e 18° e esses frequentes dias de temperatura baixa intercalando-se entre outros quentes após as chuvas ou as friagens vindas do Sul. A temperatura média, baixa em geral, que reina nos planaltos paulistas, mineiro, goiano e paranaense, mesmo no verão, e essas quédas das minimas noturnas a limites que quasi cerceam por completo a vitalidade do estegomyia, retardam todas as suas funções, a necessidade que ele tem de picar e fazem com que o virus não possa praticamente se multiplicar nele ou só o faça muito lentamente de modo que, na imensa maioria dos casos, o inseto atinge seu limite de vida antes que possa se ter tornado transmissor do virus que existe no seu organismo.

Daí decorre a raridade com que, nos climas de planalto nas regiões em questão, os casos de febre amarela que vêm para as cidades infetadas por estegomyias e nelas evoluem em sua fase inicial, dão logar a novos casos da molestia, fato que tanto tem chamado a atenção dos médicos e dos leigos. E' certo que, em outros tempos, houve no Estado de São Paulo e em outros Estados do planalto brasileiro, mortiferas epidemias de febre amarela transmitidas por estegomyias as quais irrompiam em geral quando o verão ia adiantado, nas cidades ao longo das estradas de ferro. E' preciso, porém, notar que nessas épocas, os indices estegomicos eram elevadissimos e que os mosquitos encontravam nas casas, um sem numero de talhas, depositos d'agua, vasos com flôres, etc., que creavam condições em extremo favoraveis para a vida e multiplicação dos estegomyias e, por isso, não admira que esses transmis-

sores fossem então numerosissimos. Em nenhuma cidade de S. Paulo de hoje, por menor e menos cuidada que seja, será possivel encontrar essa situação de Campinas durante a epidemia terrivel de 1889, com seus 6.500 poços d'agua, afóra todos os demais depositos caseiros numa cidade de cerca de 15.000 habitantes. Narra o professor Adolpho Lutz que eram tantos os estegomyias que ele para lêr, durante o dia via-se obrigado a se recolher debaixo de cortinado. Nestas condições, havendo tantos estegomyias, e tendo eles condições tão bôas para viver dentro das casas, em temperatura mais favoravel, não admira que, nos verões muito quentes, a molestia pudesse irromper com grande violencia, causando essas celebres epidemias de Campinas, Sorocaba, Ribeirão Preto, Dois Corregos, S. Simão, Rio Claro, etc.

Apesar, porém, do numero incomparavelmente menor de estegomyias que hoje ha nas cidades do planalto e das condições climatericas adversas que nelas existem para que o mosquito que se infeta num doente, venha a transmitir a febre amarela, ela já tem aparecido aqui e ali, dando alguns casos de origem urbana demonstrando a possibilidade da passagem da molestia silvestre para a cidade. Assim em Cambará, no Norte do Paraná, onde grassou a forma silvestre, Walcott teve ocasião de observar uma duzia de casos de febre amarela que se deram em habitantes da cidade que não iam á mata, numa zona onde havia estegomyias. Tambem em Presidente Venceslau, no Estado de São Paulo, em Abril de 1937, quando o indice estegomico da cidade era de cerca de 22%, foram observados pelo dr. Idt Pontes, chefe do Serviço de febre amarela local, dois pequenos fócos urbanos, irradiando um deles de modo classico, de uma pensão á qual vieram ter, nessa época, diversos doentes na fase infetante, oriundos das matas proximas.

Em contraste com a dificuldade com que a febre amarela silvestre penetra nas cidades do planalto devido sobretudo ás condições climatericas dele, se contrapõe a facilidade com que se observa a penetração dela, do mato para as cidades, nas zonas quentes e baixas onde o estegomyia tem sua vitalidade perfeitamente normal e o virus nele se multiplica, por causa disso muito rapidamente. Tal foi o que ocorreu em Figueira, logar a menos de 200 metros de altitude no vale do Rio Doce, e tambem em Theophilo Ottoni, cidade de pouca altitude com clima muito quente e com muitos estegomyias, na qual irrompeu inesperadamente, uma epidemia de uns 100 casos de febre amarela, muito provavelmente de origem silvestre, pois mais tarde casos da molestia foram descobertos na mata.

Estes exemplos vêm ainda uma vez confirmar que a barreira mais forte que se opõe á entrada da febre amarela, nas cidades do planalto

é o clima ameno dele, com grandes oscilações diarias, dando diferenças de 12° a 20° e média de 22° e 24°, mesmo nos mêses de verão. Os fatos estão indicando que tais logares podem se manter indenes com indices estegomicos relativamente altos, dados os óbices que ha para a infecção dos *Aedes aegipti*, mas não julgamos que apesar disso se devam permitir neles indices estegomicos superiores a 10% especialmente no verão, quando muitas vezes a temperatura se mantém alta e constante por muitos dias e se trate de zona sujeita a febre amarela vinda da mata. Ao passo que no planalto os estegomyias têm condições tão precarias de vida e tão refratarios se mostram á transmissão do virus da mata, os mosquitos silvestres, ao contrario, transmitem com extrema facilidade o mal dentro da mata, ás pessôas que vão trabalhar nelas, em condições de temperatura bem inferiores ás que encontram normalmente os estegomias uma vez que na mata, em São Paulo, tanto quanto permitem nossas observações a respeito, as temperaturas oscilam entre 14° a 26° mais ou menos, nos mezes quentes do ano com médias em torno a 20°. E' preciso notar, porém, que na temperatura de 20° ou pouco acima, os mosquitos da mata encontram condições térmicas tão favoraveis á sua vida como o estegomyia de 27° a 32°, uma vez que os insetos silvestres estão adaptados á vida em condições de temperatura muito inferiores ás do seu congenere urbano. Por sua vez o virus se multiplica bem neles, numa temperatura que já seria impropria para que ele evoluisse no estegomyia.

Surge deste fato a dedução muito interessante de que a multiplicação do virus da febre amarela no mosquito, não está em relação com a temperatura, e depende sobretudo da maior ou menor adaptação do inseto a um dado nivel térmico. Assim, para que o estegomyia transmita bem o virus amarilico, torna-se necessario uma temperatura média acima de 25°, ao passo que para os mosquitos silvestres a temperatura de 20° oferece condições favoraveis á transmissão por tais insetos. Desta forma o virus amarilico evolue no mosquito mais ou menos como sucede nas culturas desse virus em meios com tecidos vivos, nas quais o virus aumenta ou diminue de acôrdo com a vitalidade celular da cultura; si esta é perfeita o virus se desenvolve bem; si ela diminue por envelhecimento da cultura, por uma contaminação dela ou por outra causa, embora a estufa permaneça á temperatura habitual, a cultura regride e o virus começa logo a se mostrar menos ativo.

III

MODO DE INFECÇÃO HUMANA COM O VIRUS DA FEBRE AMARELA PROPAGADA PELOS MOSQUITOS SILVESTRES

Constitue um fato de observação constante de nossa parte e daqueles que conosco têm feito capturas de mosquitos nas matas durante o dia, que os insetos que então nos atacam são sempre exemplares novos, com as escamas perfeitas e sem o minimo sinal de terem sugado sangue anteriormente. Os mosquitos que já sugaram uma vez reconheciveis pelas escamas estragadas e já caídas e pelo abdomen com ovos desenvolvidos, não atacam expontaneamente durante o dia e permanecem nas matas nos logares humidos, em baixo das folhas, perfeitamente quietos, não vindo sugar de novo senão á noite como tivemos ocasião de observar na Estação de Biologia Silvestre de Perús em S. Paulo, para as especies *Lutzia brasiliæ*, *Aedes leucocelanus*, *Mansonia titilans*, *Goldia pallidiventer*, etc. E' sabido que tambem os anofelineos e os *Aedes aegipti* que nos picam durante o dia, são sempre mosquitos novos que ainda não sugaram e por isso não ha transmissão de impaludismo pelos anofelineos, nem de febre amarela pelo stegomyia, durante o dia. Esses mosquitos depois de sugarem uma vez, mudam de habitos e então passam a picar somente á noite e por isso ninguem adquire impaludismo ou febre amarela no periodo diurno. O mesmo fato ocorre com os mosquitos silvestres e somente os insetos novos nos sugam durante o dia, adquirindo eles depois de seu primeiro repasto habitos noturnos. Como porém pode-se adquirir febre amarela silvestre nas matas durante o dia, sendo ela comum em pessoas que só estiveram na floresta de dia, como por exemplo: trabalhadores, viajantes, caçadores, etc., é preciso encontrar uma explicação para essa ocurrencia tão diversa do que se sabe em relação á febre amarela urbana e ao impaludismo. Em vista dos habitos dos mosquitos silvestres semelhantes ao dos demais mosquitos, a nós nos parece que os casos de infecção amarilica adquiridas durante o dia, na mata, não vem da picada dos mosquitos e sim entrando a pele das pessoas em contato com o virus expelido pelos insetos infectados com as goticulas de fezes, as quais como demonstraram nossas experiencias com o dr. Costa Lima, contém virus que atravessa facilmente a pele intata. Assim se explica porque pessoas que entraram por muito pouco tempo na mata, durante o dia, tivessem adquirido febre amarela, quando nenhuma probabilidade tinham de haverem sido picadas por mosquitos infectados.

Como os mosquitos que já sugaram estão constantemente a expelir

goticulas de fezes é possivel que elas venham cair diretamente sobre a pele das pessoas que se acham na mata e, se contêm virus, provoquem a infecção amarilica. Tanto de um modo como de outro, é a unica maneira que temos para poder explicar as infecções ocorridas na mata, durante o dia, em pessoas que nela penetraram, ás vezes mesmo por um tempo extraordinariamente curto. Tais pessoas certamente não foram picadas por mosquitos infectados, pois durante o dia só se é atacado por mosquitos novos, ainda não tendo sugado, como as observações feitas por nós e hoje já largamente confirmadas estão a demonstrar. No laboratorio as fezes dos mosquitos infectados depositadas sobre as paredes das gaiolas e vidros em que estão presos os insetos, se mantêm virulentas por bastante tempo, á temperatura ambiente, e na mata ainda será mais facil essa conservação, dada a temperatura mais baixa e menor humidade do meio.

Se no macaco pela simples deposição das fezes de mosquitos infectados, sobre a pele intata do animal, se consegue obter a febre amarela, muito mais facil será a infecção no homem que tem a pele mais fina e quasi sempre um tanto humido, na mata, devido á sudação e á dificuldade de evaporação no ambiente dela, em geral bastante carregado de vapor d'agua. Ainda é possivel ocorrer na mata que outros insetos, moscas, motucas, etc., pousando numa folha em que existam fezes de mosquitos infectados acarretam o virus nas suas patas e na tromba e o venham depositar na pele de uma pessoa sobre que pousem.

Estas diversas hipóteses são aceitaveis diante da constatação bastante certa hoje, tal o numero de observações feitas, de que os mosquitos que nos picam na mata durante o dia, são sempre insetos novos e que sugam pela primeira vez. Parece, portanto, haver na mata, um duplo modo de transmissão da febre amarela: durante o dia sem a picada do mosquito, entrando a pele humana em contato com fezes contaminadas, e á noite não só por este meio como tambem pela picada de mosquitos infectados com virus amarilico. O problema apresenta como se vê os mais interessantes aspetos epidemiologicos a desafiar a capacidade dos pesquizadores.

CONCLUSÕES

Tudo leva a crer que a febre amarela urbana assim como a rural do nordeste brasileiro, são transmitidas exclusivamente pelo estegomyia como prova a repetida observação da sua não propagação ás matas proximas dos logares em que elas grassam.

A febre amarela silvestre deve se ter originado em consequencia

da adaptação do virus urbano aos mosquitos da mata em um tempo que não parece muito distante, pois as referencias ao mal principiaram recentemente, embora em outros tempos fosse muito facil se ter ela revelado devido á existencia de abundantes matas e de gente trabalhando nelas em vasta área abrangendo grande parte de 3 estados do sul do Brasil e serem numerosos os surtos urbanos nas cidades e localidades dessas zonas que mantinham intenso intercambio humano com as zonas rurais.

A ausencia de imunidade para a febre amarela por parte dos habitantes das zonas das matas e zonas rurais dos estados do sul do Brasil e o fato de não ser assinalada mortandade de macacos bugios (*Allouata*) fala tambem muito fortemente contra a existencia de febre amarela silvestre nelas, em outras épocas.

Os mosquitos silvestres, estando adaptados á vida em temperaturas muito mais baixas que o *Aedes aegipti*, tem por isso a capacidade de transmitir o virus amarilico em condições térmicas ambientes inferiores a aquelas em que o estegomyia é capaz de fazel-o. Resulta dai se observarem casos de febre amarela silvestre em localidades cujas condições de temperatura ambiente as tornam improprias á existencia da molestia transmitida pelo *Aedes aegipti*.

A transmissão do virus amarilico depende mais da adaptação do mosquito á vida em uma dada temperatura do que de um determinado gráo térmico ótimo para que o virus evolúa nele.

Os mosquitos silvestres que picam durante o dia são sempre insetos novos que ainda não sugaram, tal e qual acontece com o *Aedes aegipti* e os anofelineos que atacam o homem durante o dia e por isso não se adquire malaria nem febre amarela transmitida pelo estegomyia quando o sol está de fóra.

Sendo a febre amarela silvestre comumente adquirida durante o dia, isso só será possivel entrando a pele humana em contato com o virus que os mosquitos depositam com suas fezes nos vegetais da mata em que eles pousam e se abrigam.

Rio, 10 de Agosto de 1939.

Mosquitoes and yellow fever virus

by

Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão
Chief of Service of the Oswaldo Cruz Institute

ARE URBAN AND JUNGLE YELLOW FEVER TWO DIFFERENT DISEASES?

The first references to the presence in our Continent of a new form of yellow fever, different from that known here for two centuries, because it prevailed in the jungle instead of occurring in the cities, it was able to infect people during day-time and it was transmitted by jungle mosquitoes since *Aedes aegypti* did not exist in the foci, date from some 60 years ago. This type of jungle yellow fever was very different, on account of these characteristics, from the classic disease, known up till then, which prevailed in the cities of the coast and of the interior, where *Aedes aegypti* existed as a vulgar and domestic mosquito.

The jungle form of yellow fever was for the first time appointed, in America, in 1887, by Camio y Ortiz in small foci of the jungle near the localities Abapó, El Espino and Muchuri, south of Santa Cruz de la Sierra, in Bolivia. More or less ten years later on, we meet with references of Lutz to cases in the jungle of Funil, near Campinas, and also in the zone of Taboão, near Taubaté, the Sanitary Service of the State of São Paulo found out, in 1904, cases of yellow fever, without discovering Stegomyia in the places where the patients were living. In 1907 a very characteristic focus of jungle yellow fever, which became classic, was reported to exist in the mines of emeralds of Musso, Colombia, where up till now the disease maintains itself, although with interruptions. This focus has been very well studied by the colombian physicians Franco, Martinez, Santa Maria and Toro de Vila, who not only identified the prevailing disease as yellow fever, but affirmed also that it was acquired during day-time, having as transmitting agents jungle mosquitoes and Stegomyia. Later on it was got known that there had been, on the part of Franco, some confusion as to Stegomyia, since that mosquito does not exist in Musso, as has been proved by the researches, made by the Rockefeller Commission, that confusion

having probably been caused by some striped mosquito of the jungle. The focus, observed in the mines of Musso, is especially interesting for being completely isolated, without any contact of people, working there, with any other near point where eventually urban yellow fever might prevail. These first papers, referring to the existence of yellow fever of sylvestral character in these limited foci, did not call the attention of the physicians or hygienists of that time and the matter fell into oblivion up till recently.

Here, in Brazil, nothing more was observed during more or less 30 years, after the references to São Paulo. On the other side, thanks to the anti-stegomyical measures, taken in the cities by the Sanitary Service, the classic urban yellow fever disappeared nearly completely from the American Continent, continuing only very feebly in the zone of North-Eastern Brazil, where it subsisted in its rural form, but always dependent on the presence of Stegomyia. The decrease of yellow fever during a large period made the matter loose a great part of its original interest, and even at a certain moment it was accepted that it had wholly disappeared from the Continent. Unhappily that supposition did not last for much time, and shortly the evil re-appeared in its common urban and rural forms, due to the sending of troops, not immune against yellow fever, to regions of the north-East of the country, where, accompanying the military forces in movement, it attained the valley of São Francisco, attacking the city of Pirapora, State of Minas Geraes, in 1926, where it caused an urban outbreak, subsequently extinguished by prophylactic measures against Stegomyia.

In 1928 there appeared suddenly once more the classic yellow fever in the city of Rio de Janeiro, where it had disappeared for 20 years, spreading subsequently, always in urban form, over 44 localities of the State of Rio de Janeiro and over some ones of the State of Minas Geraes, São Paulo and Pará, but disappearing again completely the next year, after having caused some thousands of cases in the city of Rio de Janeiro and in other places of the country.

At that time no reference has been made to the occurrence of the jungle form, as sequel of that large outbreak of classic urban yellow fever, what is very surprising in view of the fact that on that occasion yellow fever spread in not less than 44 localities in the State of Rio de Janeiro, and that in many of these the jungle extends itself to the urban limits. It ought to be noted that at this time all the zones of that State were severely watched by the sanitary authorities, who discovered all these numeros urban foci and from whose attention no unusual disease, eventually prevailing in the forests, could, no doubt, escape. At that

time there was also no verification of mortality among howling monkeys in the forests, what nowadays is very common and a rule without exception in the places where jungle yellow fever is prevailing for the first time.

In 1932 references to the existence of jungle yellow fever began again to circulate with the discovery in the Valle de Chanaan, State of Espirito Santo, of cases of a suspected disease, in full jungle, in a region of isolated dwellings, but without the presence of *Aedes aegypti*. At that time the Rockefeller Commission identified perfectly the disease as yellow fever by its clinical manifestations and by means of isolation of the virus in rhesus monkeys and mice.

Since then the matter became very important, because the disease showed a wide and unexpected spread in several zones, especially in North and Southern Brazil, in Colombia and Bolivia, and later on in Venezuela, Paraguay, etc., where it has been accurately studied on the part of the Rockefeller Commission, by the experts of the Oswaldo Cruz Institute and by several physicians, interested in this matter.

Since 1935 up to the first months of 1939, the outbreaks of jungle or sylvan yellow fever succeeded themselves in the Southern States of Brazil, in Matto Grosso, Goyaz, São Paulo, Minas, Paraná, State of Rio de Janeiro, in the South of Espirito Santo, and in the State of Santa Catharina, and without any fear of error, the cases, there appeared, may be valued at ten thousands, if we take into consideration that the mild manifestations of the disease, which, as a rule, escape from exact diagnosis, are 10 to 20 times more frequent than the cases, which clinically can be diagnosticated with certainty. There must have been, at least, 2 thousand fatal cases during that period, when we take into consideration that the cases, diagnosticated by viscerotomy and by necropsy, do not represent their total, since not all the cases, occurring in the interior, can be fiscalized systematically by physicians or sanitarians.

The nearly unanimous agreement of the physicians, who have carefully observed the jungle disease, and specially of those who, times ago, had to do with the old yellow fever of the cities, is that the jungle disease does not differ from the urban disease, transmitted by Stegomyia neither in its clinical aspect nor in its anatomo-pathological or histopathological lesions, nor by its immuno-reactions etc., and that only its epidemiology is very different. Some authors have the opinion that the jungle-disease is milder than the disease, anciently verified in the cities, but that opinion is not confirmed by observations of the actual outbreaks, and, even if it were so, the argument would not be conclusive in order to consider, only for that reason, the two diseases different one from another, since, in the same way, scarlet fever and diphtheria in Rio de

Janeiro are not different from those of São Paulo, although being much milder in the first named city than in the second one. Some other authors have the opinion while looking for differences between the urban disease and jungle yellow fever, that this last one does not show any tendency to attack a locality where Stegomyia are found. To-day it has been perfectly verified that the jungle virus develops itself in the mosquitoes of the jungle and also in Stegomyia, and therefore there would not exist any obstacle to the jungle-disease to invade the cities, when these places receive patients, capable of infecting mosquitoes and their index of Stegomyia is high and their conditions of temperature favour the transmission of the disease by *Aedes aegypti*. For the rest, what has been demonstrated by observations, made in localities where such conditions prevailed, is exactly the passage of the jungle virus to the cities, as happened in Cambará, State of Paraná, in Figueira, State of Espirito Santo, in Theophilo Ottoni, State of Minas Geraes, and in Presidente Wenceslau, State of São Paulo. In this last named city the index of Stegomyia which was high in the occasion of the outbreak of the jungle-disease in its environs, there were formed in the beginning of 1937, two urban foci, which caused several cases in people who had not left the locality, and in one of which the disease irradiated itself, in the old classical way, from a boarding-house, which had received patients in the infecting phase of the disease, originating from the near jungle, as has been very well verified by Dr. Idt Pontes, chief of Yellow Fever Service of São Paulo, in the sector, to which the said locality belongs. That nowadays these penetrations of jungle yellow fever are less frequent in the cities of the zones where it prevails, is due, for a great part, to the rapid decrease of their index of Stegomyia, obtained by the prophylactic services against yellow fever, started immediately on its outbreak, and frequently also to the somewhat low temperature, which does not permit transmission of the virus by Stegomyia, but is still sufficient to allow its transmission by jungle mosquitoes, which are less exigent as to thermic degrees not only for living but also for transmitting the disease.

It is very surprising that, when outbreaks of urban yellow fever occurred every year in several localities on the coast and in the interior, in which the disease was very well known by physicians and even by laymen, it has not been frequently signalized in the jungle, with exception of the rare and very limited foci, in which it had primarily been discovered many years ago, what proves perhaps the still imperfect adaptation of the urban fever to the jungle mosquitoes, the foci remaining, therefore, limited.

The woods and the farms were then frequented by many people

of the cities, who went there for business or for pastime, as for instance, hunting, walking or fishing, etc. It is worth mentioning that in the Southern States of Brazil, specially in the States of Rio, Minas and São Paulo, all that tremendous struggle of cleaning virgin forest for planting billions of coffee-trees during a period, in which the jungle and its animals were much more abundant than nowadays, has been done without there having been signalized outbreaks of jungle yellow fever. The farms of the plateau of Minas, and those of São Paulo were considered healthfull places, there not being any notice of having appeared there large outbreaks of yellow fever with the caracteristics of the recent epidemics although the cities and the surrounding localities had suffered repeated and decimating epidemics of urban yellow fever, as happened, for instance, at Cantagallo, Vassouras, Valença, Juiz de Fóra, Barra do Pirahy, Barra Mansa, Arcias, Campinas, Ribeirão Preto, Rio Novo, São Simão, Rio Claro, Sorocaba and in so many other ones. Besides, since 1888, with the abolition of slavery in Brazil, there was established a large course of immigration of european people, which brought, within little more than a decennary, to the farms of the interior more than one million of individuals, sensitive to yellow fever. In the rural zones of the South, these immigrants, although always in contact with the jungle on account of their occupations, never were victims of jungle yellow fever while, if they went to and stayed even for only one night in the cities, where the disease prevailed, they were frequently attacked by the urban disease, which killed them on large scale. The forests and the farms served in earlier times exactly as refuge to the population of the cities, invaded by yellow fever, when the disease became more intense, and, notwithstanding, there was not any propagation of the disease to the mosquitoes, to jungle animals or to sensitive individuals, living in the rural zones.

When, on occasion of the flights of these masses of people, there arrived individuals, attacked by the disease, at the rural zones, the disease extinguished itself without any sign of propagation to the forests, what fatally would have been observed, if the urban virus were easily adaptable to transmission by jungle mosquitoes. It ought also to be noted that at that time no great mortality of howling monkeys (*Allouata*) was observed, what to-day is very common and is a certain index of the existence of the jungle disease, to which they are sensitive. Such epizootics, if then occurred, would have fatally been noted by the peasants and hunters, who, as good observers of the animals they kill, would have signalized them, as it is being done nowadays, in every part where the jungle disease appears for the first time. To-day exactly the con-

trary is happening and reported, by the inhabitants of the rural zones, to great mortality of monkeys as being constant in all the foci of jungle yellow fever. The great mortality of howling monkeys preceeds nearly always even the appearance of human cases. In forests, where jungle yellow fever is prevailing, these howling monkeys, if they do not die, remain for a long period, silent, as if terrified by the unusual disease existing within them; and this fact would also fatally have called the attention of the nearby living inhabitants, accustomed to their nearly daily howling.

Not less evident was the absolute absence of immunity, formerly observed, to urban yellow fever, and nowadays, to the jungle disease, on the part of the inhabitants of the forests and of the farms of the interior in Southern Brazil, in São Paulo, in Minas, in Rio de Janeiro, in Paraná, and in Santa Catharina, whatever the age, proving therefore, that so much in one period as in the other one, neither the urban yellow fever propagated itself to the forest, nor the jungle yellow fever of to-day had anteriorly disseminated itself there.

The sons of the farmers, the students and all the rural people who came in past times from the interior of Minas, São Paulo, Paraná, Santa Catharina etc., to Rio or Santos, where the disease was endemic or whatever other focus where the disease existed, paid heavy tributes to yellow fever; they had, however, passed great part of their life in frequent contact with the forests of the regions where they were born, without having thus acquired any immunity against yellow fever, what surely would not have happened, if they had previously suffered an attack of the disease, be it the mildest possible.

Remarkable is the contrast between the sensibility to yellow fever, observed among the inhabitants of the rural zones of Southern Brazil, where the disease prevailed only in the cities, and the high degree of resistance of the rural populations of the North-East of Brazil, where, beside urban yellow fever, it existed also the rural form, transmitted by Stegomyia, and very well observed and described by Dr. Sebastião Barroso some 20 years algo. That contrast finds its explanation in the fact that the urban yellow fever of the South did not show any tendency to attack the rural zones, where no Stegomyia were found, while in the North-East the same high temperature of every day and the custom of the population of accumulating water within the house, facilitate the abundant proliferation of Stegomyia in the rural dwellings, allowing the yellow fever, transmitted by that insect, to last and to spread, conferring to the inhabitants the observed high degree of resistance. A consequence of the thus acquired immunity is the fact that the inhabitants of the

rural zones of North-Eastern Brazil could in early times visit with impunity, cities where yellow fever prevailed, while the inhabitants of analogous zones of the South died in large number, victimated by the disease, when they ventured to frequent the localities, where it prevailed. As we had the opportunity to observe in the surroundings of São Paulo and in the chain of mountains of Mogy das Cruzes where no malaria exists, the inhabitants of this zones, recently invaded by sylvan yellow fever, do no more refer that in other epochs there had prevailed any nosological entity with the the aspect of that actually observed, being also anteriorly unknown the nowadays observed great mortality among howling monkeys.

If the jungle disease were frequent in the forests of the Southern States nowadays contamined, it would anteriorly have caused, as it is doing to-day, great rural epidemics and would continue so after the extermination of the urban fever, showing now and then not only jungle outbreaks, but would also invade the nearby situated cities with the existing high indices of Stegomyia, at the time in which the transmission by mosquitoes was still ignored. At this time, such fact, which would represent a common epidemiological aspect, has not been observed and only now this was noted as a consequence of the adaptation of the yellow fever virus to the jungle mosquitoes, and therefore it became frequent in Southern Brazil, under the aspect of the jungle disease.

Worth of special reference is the fact that urban yellow fever did not give way, for instance, during the epidemics of 1928 and 1929, to an outbreak of jungle fever in the State of Rio de Janeiro, where its presence had been observed in 11 localities of the interior, causing thousands of mild cases, beside some hundreds of serious ones, to judge from the results of the protection test, realized by the Rockefeller Commission at Cambucy, Magé, Santo Aleixo, etc., where the not very apparent cases comprised more or less 60% of the inhabitants of these localities, showing the immunity acquired by a previous attack of yellow fever. By the way, it ought to be noted that at Magé and Santo Aleixo, and in some other localities of the State of Rio de Janeiro, the jungle extends itself pratically to the urban perimeter, and that these localities are situated in hot zones with many mosquitoes. In spite of all these favourable conditions, no invasion of the forests by urban yellow fever took place at that time in these localities nor in other parts of the States of Rio, Minas, São Paulo, etc., nor the mortality of howling monkeys (*Allouata*) was noted, notwithstanding the presence of extremely favourable conditions for the transformation of the strictly urban disease into a jungle one. On the other side, in the North East of Brazil, where yellow fever always existed in its rural aspect, invading the small settlements of the

interior, and is only transmitted by Stegomyia, it no more did transform itself into jungle disease, in spite of the presence, in many parts of this zone, of forests with mosquitoes and jungle animals, to which the disease could easily be propagated.

From all these facts there results that not only in the urban zones but also in the rural ones and in the forests yellow fever may prevail with different epidemiological aspects but being always the same morbid entity from the point of view of its clinical manifestations, of the lesions and of immuno-reactions, etc. Urban and rural yellow fevers are both only transmitted by Stegomyia, not showing, therefore, any tendency to propagating themselves to the forests, while jungle yellow fever must be considered a consequence of the adaptation of the virus to other mosquitoes than *Aedes aegypti*, which, for living habitually in the forests, made possible its propagation to them in the actual jungle form. May be that this adaptation of the urban virus to the mosquitoes do not date from much time at least, in the American Continent, since the first foci of jungle yellow fever were observed some 60 years ago, and only now the disease seems to take greater increase, for being favoured by the intense human circulation, observed in the interior of the country, after the construction of roads and the introduction of automobiles. It is difficult to say if this adaptation of the virus to jungle mosquitoes was done slowly, or abruptly by mutation. It is possible that this adaptation in higher degree be still going on, because some jungle mosquitoes, as we have, for instance, observed for *Psorophora discrucians*, conserve the virus only for 8 days; other authors verified that, for instance, in *Mansonia* the virus multiplicates itself very well, but is not transmitted by the bite of the insect, while *Aedes*: *scapularis*, *fluviabilis*, *leucocelanus*, *Hemagogus capricorni*, etc., are well infected and transmit the disease by biting, as happens with Stegomyia.

As to *Aedes scapularis*, it ought to be noted specially that Marchoux, Simond & Salimbeni, at Rio de Janeiro, were not able, in the beginning of this century (Ann. Inst. Pasteur, 1906 — Tome 16) to obtain the transmission of the classic urban virus by this mosquito, while nowadays it is known that this species occupies a place among the jungle mosquitoes which infect themselves and transmit, by biting. It is to be noted that the experiences of Marchoux and his colleagues were made under the best conditions, since the *Aedes scapularis*, with which they had made their experiences, sucked the blood of a patient of yellow fever in the infecting phase, and remained afterwards for 13 days at a temperature of 27°, and subsequently, 4 of these insects bite without any

result a not-immune individual, as was stated, because this pacient was ulteriorly submitted to amarillic infection by Stegomyia, and got yellow fever.

Before this adaptation of the jungle virus to various mosquitoes, Stegomyia was probably the only transmiting agent of yellow fever, as seems to be demonstrated by the fact that since 2 centuries up to recents date the propagation of the disease to the forests had not been observed, what would been, however, very easy discovered, as it was the case in the first foci, observed in the isolated and distant inland of Bolivia, and in that very limited focus of Musso, etc. Now then, if in these remote places yellow fever was immediately diagnosticated, although the cases not being many, the more reason there is to believe that it would have been diagnosticated, if it had spread in the coffee-zone of Southern Brazil, which comprises thousands of kilometers with numerous cities, where the urban disease prevailed periodically in great outbreaks during many months without interruption, and where there were many competent physicians, who knew very well the disease. The forests were at that time intensively explored for the planting of coffee-trees, and, if among the numerous groups of wood-cleavers jungle yellow fever had appeared in its commonly observed aspect, the disease would no doubt have been surely diagnosticated, since it would have called the attention of all people, laymen and physicians, specially in the healthy zones of the States Rio de Janeiro, Minas Geraes and São Paulo, where there was no serious tropical malaria to be confounded with that disease. May be that the actual presence of yellow fever in the forests shocks a little those who do not pay attention to that adaptation of the virus to jungle mosquitoes, but in view of the old doctrines of miasmatic contagion there would not been any difficulty in admitting that the disease, which prevailed in the cities, could also constitute foci in the forests. Well then, in spite of all these favourable conditions present in very extense zone of Brazil on account of the great development of the coffee-culture, in 3 of the Southern States, there does not exist any reference in these regions, to outbreaks of jungle yellow fever during the long period of more than half a century up till recent times. The area comprised hundreds of thousands of square kilometers, covered by dense virgin woods, with farms, where more than 1 million of people laboured, where mosquitoes and sensitive monkeys (*Allouata*) were not failing, and where an intense intercourse existed between the cities of that region and the rural zone, and, although in many of these nuclei of population, yellow fever prevailed periodically again and again, the urban disease did not propagate itself to the woods, nor disseminated there itself transformed into jungle disease. Nowadays

that there are much less woods and monkeys, the population of numerous zones being more scanty on account of the extintion of many coffee plantations, we see that in absence of the urban disease, jungle yellow fever to invade the whole extense zone, which formerly was immune, as is shown by the great sensitiveness of its rural inhabitants to yellow fever, when they went to the cities where the disease privailed, what would not have happened, if they had previously suffered even the slightest attack of yellow fever in the forests.

The adaptation of urban amarillic virus to jungle mosquitoes, allowing its propagation to the forests, is quite acceptable in an era, in which we assist at adaptations and disadaptations of malaria parasites to certain Anophelinae in several parts of the world: this matter has been very well studied with respect to the varieties of *Anopheles maculipenis*, the differential characteristics of which are minim, sometimes only perceptible in the eggs of these mosquitoes. Even these smallest structural modifications are suficient to produce profound alterations in the epidemiology of malaria with the consequence that in certain regions the disease develops itself largely and disappears in other ones, where it had already prevailed intensively, according to the adaptability or not, of the hematozoa to the existing variety of *Anopheles maculipenis*. Several other adaptations and disadaptations of parasites and virus to their transmitting agent have certainly occurred in course of time.

On account of the prophylactic measures against Stegomyia, applied on large scale in Brazil by the Yellow Fever Service, the urban and the rural diseases, transmitted by Stegomyia, have been very much reduced, if not wholly extinguished, their last great outbreaks being those, appeared in the Capital of the Republic, in the State of Rio de Janeiro and in other States of Brazil in 1928 and 1929. The jungle or sylvan fever extends itself, on the contrary, every time more not only in Brazil but also in other South-American countries and in Africa, constituting now a serious menace to the world, since its propagation to other stil immune american, european and asiatic regions, in which exist urban and jungle mosquitoes capable of transmitting, is not impossible. Now that the human intercourse becomes every time more rapid and more frequent thanks to the automobile and the airplane, the danger becomes every day more pressing. It is, however, to be expected that the prophylactic services against the disease become, in their turn, more efficacious and that, above all, the vaccination, done at large scale, make finally stop the march of this terrible scourge of mankind.

II

THE INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE EPIDEMIOLOGY OF YELLOW FEVER, TRANSMITTED BY JUNGLE MOSQUITOES AND BY *AEDES AEGYPTI*.

Those who are observing the evolutions of the recent epidemics of jungle yellow fever of 1934 to 1937 in the elevated zones of the plateau, in the States of São Paulo, Goyaz, Minas and Paraná, at altitudes of 500 to 1.000 meters, were surprised by the fact that no foci of yellow fever were formed in the cities, infested by Stegomyia, and which received and hospitated patients, still in the first three days of the disease, from the woods.

Some authors interpreted that occurrence as a proof that the extra-urban, jungle yellow fever was different from the classic urban yellow fever, but nothing authorizes such supposition, as the own biology of Stegomyia furnishes the exploration of this epidemiological aspect, a little perplex, no doubt, but perfectly comprehensible, when we take into consideration that the vital optimum of Stegomyia lies between 27° and 32° and that from 25° downwards it begins to show a more reduced activity and retardation of all the functions, represented by less activity to bite, by the delay of ovulation, of the posture, of the larval phase, of the nymphal activity, etc. For instance, between the temperature of 22° and 23° the posture may last 20 to 30 days, the larvae having a very slow evolution; under 17° we may say that all the vital activities of the mosquitoes stop and it is condemned to disappear.

Stegomyia is especially a mosquito of places of hot temperature, oscillating between 27° and 32°, being always very sensitive to low temperature with the consequence that in climates of elevated regions of the States of São Paulo, Goyaz, Minas Geraes and Paraná, where summer temperature oscillates between 22° and 24° and rarely more, Stegomyia lives in conditions which are not very favourable to its life cycle. They show, therefore, less tendency to bite, their posture is retard till 20 and more days, from their eggs larvae are born after 20 days, and their larval and nymphal phase are also delayed, as has been shown by the classic experiences of Marchoux, Salimbeni and Simond. In such conditions, when the mosquito sucks once, taking 18 to 20 days for the first posture, it is already, when the posture terminates, at the end of life, not returning to bite. On the other side, low temperatures exercises an accentuated action on the multiplication of virus in the mosquito, reducing it and impeding its arrival at the salivar glands and its trans-

mission by the bite. At high temperatures it is possible that Stegomyia transmit the virus within 4 to 5 days, but the interesting observations of Davis show that at 25° the mosquito wants 8 days for transmitting yellow fever, at 23° this term is of 11 days; at 21° it wants 18 days, and at 18° it practically does not infect any more, and after 30 days its biting is inefficacious, although its virus remain in a state of hibernation, since, it conserved for more than 6 days at 36°, it reassumes again the capacity of transmitting yellow fever by sucking.

The life-time of the mosquito in liberty, in the climate of São Paulo, suffering all the dangers and intemperies and the influence of the great variations of temperature, which oscillate between 12° and 20° at the same day, does not exceed, in our opinion, even in the best conditions, 20 to 25 days.

We know that the vitality of the mosquito is very much influenced and prejudiced by these falls of nocturnal temperature, very common in São Paulo and in other places of the Brazilian plateau during summer when the thermometer attains 16 to 18°, these frequent days of low temperature being intercalated by hot days after rain or after chilling winds of the South. The average of temperature, generally low, which prevails on the plateau of São Paulo, of Minas, of Goyaz, and of Paraná, even during summer, and these falls of nocturnal minims to limits, which shorten the vitality of Stegomyia, retard all its functions and its necessity of biting and do not allow the virus to multiplicate itself, or, if so, only slowly, with the consequence that in the immense majority of cases, the insects attains the limits of life, before becoming a transmitting agent of the virus, contained in its organism.

That is the reason why in the climate of the plateau of the respective regions the cases of yellow fever, attaining the cities, infected by Stegomyia and there developing themselves in their initial phase, provoking new cases, are rare, calling therefore, the attention of physicians and laymen. It is true that in past times there prevailed in the State of São Paulo and in other States of the brazilian plateau, mortiferous epidemics of yellow fever, transmitted by Stegomyia and which appeared suddenly, when summer was is its highst, in the cities, situated along the railway-roads, but it is to be noted that at these periods the indices of Stegomyia were very high and that in the dwellings the mosquitoes had at their disposition, for lack of canalized water-supply, innumerous water-vessels, reservoirs, flower-pots, etc., which offered extremely favourable conditions for the life and multiplication of Stegomyia, and, therefore it is no wonder at all that at that time the transmitting agents were very numerous. In no city of São Paulo, not even in the

smallest and less treated ones, it is now possible to find the conditions existing in Campinas, during the terrible epidemic of 1889, with its 6.500 water-wells, beside all the other private deposits in a city of more or less 15.000 inhabitants. Professor Adolpho Lutz mentions that Stegomyia were so numerous that in order to be able to read during day-time, he was obliged to shelter himself under a mosquito-net. It is, therefore, no wonder that in such conditions, in the presence of so many Stegomyia, which encountered the best living conditions within the dwellings at the most favourable temperature, the disease could break out, in very hot summers, with great violence, provoking the famous epidemics of Campinas, Sorocaba, Ribeirão Preto, Dous Corregos, S. Simão, Rio Claro, etc.

In spite, however, of the incomparably less number of Stegomyia in the cities of the plateau and of the adverse climateric conditions, there existing with respect to the transmission of yellow fever by this mosquito infected in patients within the localities the disease has already appeared here and there, giving cause to some urban epidemics, what demonstrates the possibility of passage of the jungle disease to the city. For instance, at Cambará, Northern Paraná, where a jungle form prevailed, Walcott had the opportunity of observing two dozens of cases of yellow fever in inhabitants of the city, who did not frequent the woods, and lived in a zone where Stegomyia existed. In Presidente Wenceslau, State São Paulo, in April of 1937, when the index of Stegomyia of the city was more or less 22%, Dr. Idt Pontes, chief of the Local Service of Yellow Fever, observed also two small urban foci, one of which irradiating itself in the classic way from a boarding-house, frequented at that time by several patients in the infecting phase of the disease coming from the near woods. Contrasting with the difficulty with which jungle yellow fever penetrates into the cities of the Plateau, chiefly on account of its climateric conditions, we note the facility with which it penetrates from the woods into the cities in hot and low zones, where Stegomyia has a perfectly normal vitality and where, therefore, the virus multiplicates itself very rapidly in that insect. It was that what occurred at Figueira, a locality situated at less than 200 meters of altitude in the valley of Rio Doce, and also at Theophilo Ottoni, a city of low altitude and of very hot climate with many Stegomyia, where there happened a sudden outbreak of some 100 cases of yellow fever, very probably of jungle origin, since, later on, some cases of this disease were discovered in the woods.

These instances confirm still more that the strongest barrier against penetration of yellow fever into the cities of the Plateau is its mild cli-

mate with great daily oscillations from 12° to 20° with an average of 22° and 24° even in summer. These facts prove that such places may conserve themselves immune with relatively high index of Stegomyia in view of the obstacles against infection by *Aedes aegypti*, but we do not believe that, notwithstanding, there may be allowed in the localities of the interior a high index of Stegomyia especially during summer, when the temperature maintains itself many times high and constant. While on the plateau Stegomyia finds very precarious life-conditions and shows itself so refractory to transmission of the jungle virus, the jungle mosquitoes, on the contrary, transmit the disease, with extreme facility, within the woods, to people who is going to work there in conditions of temperature, very inferior to those with which normally Stegomyia meets, since, as far as our observations go in this respect, the temperature oscillates more or less between 14 and 26° in the warm months, with an average of more or less 20°. It is, however, to be noted that at 20° or a little more the jungle mosquitoes meet with the same favorable life-conditions as Stegomyia at 27° to 32°, since the jungle insects have adapted themselves at living at much lower temperature than the urban mosquito. In its turn, the virus multiplies itself very well in them at a temperature which would already be improper for its evolution in Stegomyia.

From this fact there results the very interesting deduction that the multiplication of the virus of yellow fever in the mosquito has no connexion with temperature and depends, above all, upon the more or less adaptation of the insect to a given thermal level. For instance, in order to transmit well the amarillic virus, the Stegomyia wants a temperature of more than 25°, while to the jungle mosquito the temperature of 20° offers already favorable conditions for transmission. Thus the amarillic virus develops itself in the mosquito more or less as it happens in the cultures of this virus in media with living tissue, in which the virus increases and diminishes according to the cellular vitality of the culture; if that vitality is perfect, the virus develops itself very well, but, if the vitality diminishes on account of the medium becoming aged or by other reasons, the culture retrocedes, even when the temperature of the incubator remains normal, and the virus shows itself immediately less active.

III

THE PROCESS OF HUMAN INFECTION BY THE VIRUS OF YELLOW FEVER, PROPAGATED BY JUNGLE MOSQUITO.

A fact, constantly observed by us and by those who have with us, captured mosquitoes in the forest during day-time, is that the insects which then attack us, are always young specimens with perfect scales and without the slightest sign of having already sucked blood. Mosquitoes which have already once bitten, what is revealed by the ruined and already dropped scales and by the abdomen with developed eggs, do not attack spontaneously during day-time, remaining in the forest at humid places under the leaves, perfectly quiet, not going to bite again unless night, as we had the opportunity of observing at the Station of Sylvestral Biology, at Perús, São Paulo, for the species *Lutzia brasiliae*, *Aedes leucocelanus*, *Mansonia titelans*, *Goldia pallidiventer*, etc. It is known also that the Anophelinae and the *Aedes aegypti*, which bite during day-time, are always young specimens which have not yet sucked, and therefore there is no transmission of malaria, nor of yellow fever during day-time.

After having sucked once, these mosquitoes change their habits, sucking now only at night, and, therefore, nobody acquires through the bite of anophelinae malaria or yellow fever through the bite of the Stegomyia during day-time. The same happens with the jungle mosquitoes, and only the young ones suck our blood during day-time, acquiring, however, after the first pasture, nocturnal habits. Jungle yellow fever may, however, be acquired in the woods during day-time, what happens frequently to people who stayed in the forest only during day-time, as for instance labourers, travellers, hunters, etc., and therefore it is necessary to find an explanation for that occurrence, which is so different from what we know in respect of urban yellow fever and malaria. In view of the habits of jungle mosquitoes being similar to those of the other mosquitoes, it seems to us that the cases of amarillic infection got during day-time in the woods, are not originated by the bite of mosquito, but by the entrance of the human skin in close contact with virus expelled by infected insects with fecal droplets, which, as it has been shown by our experiences made in collaboration with Dr. Costa Lima, they contain the virus which traverses easily the intact skin. This fact would explain why people, who had entered the woods only for very short time during day-time, acquired yellow fever without any probablity of having been bitten by infected mosquitoes.

As the mosquitoes which have already sucked blood, expell constantly fecal droplets, it is possible that these droplets fall on the skin of people in the woods, and, if containing virus, provoke amarillic infection. Be it so this is the only way of explaining infections occurred in the woods during day-time, in people who stayed there sometimes even for an extraordinarly short period. Such people had surely not been bitten by infected mosquitoes during day-time, since during the day, people is only attacked by young mosquitoes, which have not yet sucked, as has been demonstrated by our observations, now largely confirmed. In the laboratory the feces of infected mosquitoes, deposited on the walls of the cages, and of the bottles within which the insects are conserved, remain virulent for pretty long time at room-temperature, and in the woods this conservation of virulence is, of course, still easier in view of the lower temperature and of less luminosity of the ambient.

If in the monkey the infection by simple deposition of feces of infected mosquitoes on the intact skin of the animal reproduces yellow fever, the more easier the infection will be in man, whose skin is thinner and nearly always a little moist in the forest, on account of transpiration and of the difficulty of evaporation in its an ambient, saturated by evaporation of water. Besides, it may happen in the woods that other insects, flies, tabanids, etc., while resting on a leaf containing feces of infected mosquitoes, carry the virus on its legs, and on the proboscis, depositing it, subsequently, on the skin of man.

In face of this constation, today pretty certain in view of the great number of observations that the mosquitoes which suck our blood in the woods during day-time, are always young ones which suck blood for the first time, several hypotheses present themselves. Thus it seems that in the woods a double process of transmission of yellow fever takes place, viz; during day-time without the bite of the mosquito, the human skin coming into contact which contaminated feces, and at night not only by that way, but also by the bite of mosquitoes, infected with yellow fever. The problem presents, as we see, the most interesting epidemiological aspects which challenge the capacity of the researchers.

CONCLUSION.

All these factors make us to believe that urban yellow fever and also the rural one of North-Eastern Brazil are exclusively transmitted by Stegomyia, as proved by repeated observations of absence of such propagation to near woods in places where they prevail.

Jungle yellow fever must have been originated in consequence of

the adaptation of the urban virus to the jungle mosquitoes at a time not very distant in our opinion, since the references to the disease only appeared recently, although in other times its discovery would have been very easy in view of the existence of abundant woods and of many people working there in a large area comprising great part of 3 States of Southern Brazil, and of in view of the urban outbreaks in the cities and localities of these zones which maintained an intense human intercourse with the rural zones.

The absence of immunity against yellow fever on the part of the inhabitants of the jungle and of rural zones of the States of Southern Brazil, and the fact of no great mortality of howling monkeys (*Allouata*) having been signalized, speak also very strong against the existence there of jungle yellow fever, in other times.

For being adapted to live at much lower temperature than *Aedes* aegypti, the jungle mosquitoes are capable of transmitting amarillic virus in lower thermic ambient conditions than those at which Stegomyia would be capable to do it. Therefore cases of jungle yellow fever have been observed in forest in which the conditions of ambient temperature became improper to eventual existence of the disease, when transmitted by *Aedes aegypti*.

The transmission of amarillic virus depends more on the adaptation of the mosquito to living at a given temperature than on a determinated degree of thermic optimum for the evolution of the yellow fever virus in it.

The jungle mosquitoes which bite during day-time are always young insects, which have not yet sucked blood; the same happens with *Aedes aegypti* and with the *Anopheline* which attack man during day-time, and for that reason neither malaria nor yellow fever, transmitted by these mosquitoes, are acquired by man before sunset.

The jungle yellow fever is commonly acquired during day-time, but that transmission is only possible, when the human skin enters into contact with the virus which the mosquitoes have deposited, with their feces, on the plants of the woods, where they repose or are sheltered.

Sobre o hematofagismo da *Cleradà apicicornis* e outros artropodos; sua importancia na transmissão da doença de Chagas *

por

Herman Lent

(Com 4 figuras no texto)

E' do conhecimento de todos o desenvolvimento que, nessas ultimas décadas, tomou o estudo dos insetos hematofagos pela possibilidade de transmitirem doenças, o que tem sido objeto de investigações em todos os países e dado origem a elevado numero de trabalhos escritos em varias linguas.

Entre os hemipteros conhecidos como sugadores de sangue de vertebrados encontram-se cimicideos, triatomideos e polictenideos, para os quais o sangue é alimento necessario e imprescindivel para sua evolução. Os triatomideos são os transmissores naturais da doença de Chagas e deles, 28 especies, distribuidas em toda a America, já foram encontradas infestadas pelo *Schizotrypanum cruzi*; tal amplitude de distribuição, atualmente conhecida, vem pôr em relevo o que escreveu Neiva, em 1914, quando sómente no Brasil se conheciam casos de tripanosomose americana, ao encontrar a *Triatoma vitticeps* naturalmente infestada:

> « Nós estamos convencidos ser a molestia de Chagas enfermidade « pan-americana, extendendo-se do sul dos Estados Unidos ao norte da « Argentina. »

Já existem varios trabalhos publicados, relativos a hemipteros e, até, homopteros que, de habitos fitofagos ou predadores, vieram a sugar sangue humano ou de outros animais. Este assunto impressionou muitos pesquisadores, alguns dos quais viram, neste fáto acidental, forçado pelas circumstancias, um motivo de grande interesse epidemiologico para determinadas doenças, generalisando, assim, uma noção que merece ficar restrita a seus limites verdadeiros.

Tais considerações e o estudo que publicamos a seguir, foram sus-

* Recebido para publicação em 11 de Outubro de 1939 e dado á publicidade em Dezembro de 1939.

citados pela leitura de 4 trabalhos de Castro Ferreira & Deane (1938 *a*, *b*, e *d*; 1939) nos quais os autores procuram generalisar a importancia de um hemiptero *Lygaeidae*, *Clerada apicicornis* Signoret, 1863, assim determinado por Costa Lima, como transmissor da doença de Chagas no norte do País, já que os triatomideos alí existentes se encontram em condições silvestres e em pequeno numero, dizendo:

> « A importancia dos habitos domiciliares do *C. apicicornis* na região « do Amazonas cresce de interesse com o facto de não nos ter sido possivel, « nas investigações então realizadas, encontrar triatomideos domiciliares, « mas sómente o *P. geniculatus*, reconhecidamente sylvestre, e o *R. pictipes*, « que nos foi dado concluir ter tambem taes habitos. »

De passagem achamos necessario acentuar que o *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) é especie muitas vêses encontrada nos domicilios e não sómente « reconhecidamente sylvestre », como dizem Castro Ferreira & Deane, o que já é de longa data conhecido através as publicações de varios autores. Mesmo na Capital Federal, já foi assinalada esta especie em domicilio, como se poderá vêr lendo o trecho abaixo do trabalho publicado em 1923 por Neiva & Pinto:

> « Estudando agora material recebido ha annos do Dr. J. P. Albu- « querque e colleccionado em Jacarépaguá, tivemos a opportunidade de « deparar com o representante do *Triatoma geniculata*.
>
> « Informação completamente nova é a de que foi encontrado dentro « de domicilio, porquanto pouco ainda conhecemos da biologia de tão « interessante e variavel especie. »

Já em Dezembro de 1913, Travassos colecionara em Angra dos Reis (Estado do Rio), dentro de domicilio, á noite, um exemplar macho de triatomideo que, em 1922, Neiva & Pinto descreveram com o nome de *Triatoma fluminensis* e que verificações posteriores mostraram ser sinonimo de *P. geniculatus*. Mais anteriormente, entretanto, em 1914, dizia Neiva em sua conhecida « Revisão do genero *Triatoma* Lap. »:

> « Especie que aos poucos vai invadindo as casas é a *T. geniculata* « cujo *habitat*, segundo as verificações de Chagas, são as tocas do tatú « *(Dasypus novemcinctus)*. »

E Cesar Pinto, em 1925, no « Ensaio monographico » é ainda mais categorico, quando diz: « Frequenta o domicilio, segundo Neiva, Pinto e Travassos » (cf. p. 50).

Quanto ao *Rhodnius pictipes* Stal, 1872, deve ser frequente nos domicilios, pois, muitas especies do genero o são; e embora isto não possa

constituir argumento, temos que levar em conta as condições dos domicilios perto da mata, assunto que mais adiante trataremos, e tambem do habito dos triatomideos adultos que atravessam voando distancias bastante largas, á procura de alimento, o que tem sido já registrado para varias especies.

Verificamos que a *Clerada apicicornis* tem vasta distribuição geografica, pois já foi encontrada em Madagascar, Reunião, Celebes, Bengala, Ceylão, Sumatra, St. Thomas, Nova Guiné, Australia, Nova Caledonia, Mexico, Hawaii, Venezuela, Cuba, e agora no Brasil (colecionada pela Comissão de Estudos das Grandes Endemias do País, no Estado do Pará, e pelo Dr. H. de Souza Lopes, no Meyer, Rio de Janeiro). Pertence esta especie a um genero bem caracterisado, segundo Signoret,

> « ... par la position qu'occupent les ocelles au-dessous des yeux de « chaque côté de la tête, et non sur le vertex comme dans la plupart des « Lygaeites. »

Ha 37 anos passados, em 1902, já Kirkaldy, ao referir o seu encontro nas ilhas Hawaii, citou o modo pelo qual a *Clerada apicicornis* foi colecionada por F. B. White:

> « Taken by beating dead branches of a species of palm in mountain « forests. »

Ainda este autor, em 1907, diz ser inseto comum em casas velhas, caixas abandonadas, etc., suspeitando que se alimente em *Lepisma* e talvês em pequenos blatideos. Horváth, em 1909, que adicionou varias especies ao genero e dêle faz uma revisão, nada refere sobre seus habitos. Mais tarde, em 1914, Bergroth, o unico investigador referido por Castro Ferreira & Deane, ao descrever uma nova especie, *Clerada nidicola*, transcreve o relato do encontro deste inseto, publicado a 8 de Março de 1913, no « The Adelaide Observer », onde se lê que em ninho de *Trichosurus vulpecula*, marsupial australiano, foi encontrada uma fauna variada, de acarianos, carrapatos, coleopteros, psocideos, larvas de uma borboleta noturna, e o hemiptero em questão em todas as fases de evolução. Este hemiptero, « as most of the larvae and some of the mature specimens appeared to be gorged with blood ». E continúa:

> « The *Clerada*, no doubt, finds plenty of food in the opossum's nest, « but it is very unlikely that a member of this family draws blood from a « warm-blooded animal. It is much more probable that it sucks out the « Tineid and other soft-skinned larvae so common in its haunt, unless « it simply feeds on decaying vegetable matters in the nest. From the

« fact that the soft swollen abdomen of the larvae is red in colour (like « that of so many other Myodochid larvae) and that the middle of the « venter is often reddish in the images, it was hastily inferred that they « were *gorged with blood.* »

Ha 22 anos passados, em 1917, o fáto considerado novo por Castro Ferreira & Deane já tinha sido assinalado na interessante nota de Illingworth, sob o titulo « *Clerada apicicornis* sucking blood (Hemip.) » aparecida nos *Proc. Hawaiian Ent. Soc.*, e que transcrevemos na integra para que se veja que já existia a referencia do hematofagismo deste inseto, no Hawaii, ao contrario do que afirmam Castro Ferreira & Deane em seu trabalho (1938 *b*).

Diz Illingworth:

« This predaceous bug is commonly found about buildings; and there has « been some question as to its feeding habits. Kirkaldy suspected that it « fed on *Lepisma* and small Blattids, and Dr. Perkins saw a specimen « feeding on a dead roach.

« These insects, in all stages, are often very common in the piles of « dry wood in the shops of the College. I have never found them nu- « merous in the house, but from time to time we find individuals. Upon « two occasions we have taken them in the beds; and, just recently, I « caught an adult, full of blood, upon one of the sleeping children. The « place bitten was red and resembled a flea bite.

« Habitat — The Fauna Hawaiiensis gives the distribution of this « species: Reúnion, Celebes, Bengal, Cuba, St. Thomas, Venezuela, etc.; « also a note that it was taken by beating dead branches of a species of « palm in mountain forests, on Oahu. »

Embora não seja de dificil acesso a revista em que foi publicada a nota de Illingworth, a referencia áquela observação foi resumida por Bequaert, em 1926, na conhecidissima obra relativa ás atividades cientificas efetuadas pelos membros da Comissão Hamilton Rice na Amazonia, obra cuja utilidade não se precisa encarecer e de imprescindivel manuseio a todos que se ocupam de pesquisas medicas naquela região. Bequaert, na lista completa de insetos que sugam sangue, registra a *Clerada apicicornis*.

Tres anos depois, em 1929, Myers trata do assunto, achando, porém, que a especie em questão é, provavelmente, predadora normal de insetos, bordando ainda comentarios sobre acidentais picadas dos hemipteros e, tambem, sobre o hematofagismo ocasional, como se vê pela transcrição abaixo:

« It is a striking fact that nearly all the above cases of occasional « biting and blood-sucking have taken place under circumstances which, « from the standpoint of the normal biology of the species concerned,

« are extraordinarily exceptional. A very large percentage, for instance, « of the bugs and leafhoppers listed above as attacking man, did so, I was « about to say, under the influence of light.

« In summary, it may be stated that the vast majority of the bites « inflicted on man by Hemiptera of normally phytophagous habits are « by insects under the influence of very unusual conditions, amounting in « extreme cases, as during attraction by electric light, to a complete ex- « traction from their normal environment. The mere fact of alighting on « a large Vertebrate body, whether accidentally, or in flight from beating « or other collecting operations, brings the phytophagous insect within « range of a host of stimuli — visual, thermal, tactile, olfactory — which « are totally foreign to it. »

Achamos que Castro Ferreira & Deane precipitaram-se falando dos habitos domiciliares de *Clerada apicicornis* e desprezando uma série de fatores de grande importancia, quanto a se considerar domesticos animais que só aparecem nos domicilios humanos em certas condições. Quem erguer um domicilio nas proximidades da mata, verá ser ele frequentado por especies de animais, sobretudo insetos, positivamente silvestres e que a contiguidade com a floresta permitiu a possibilidade de entrar em contato com o homem dentro do domicilio. No Brasil, as habitações erguidas á beira mar, em certos Estados, pódem ser visitadas, mesmo com frequencia, por uma especie de crustaceo, o conhecido guaiamú (*Cardisoma guanhumi* Latreille, 1825) que, nem por isso poderá ser incriminado de domiciliar.

A *Clerada apicicornis*, segundo dizem Castro Ferreira & Deane, foi achada em todas as fases de sua evolução em folhas de palmeiras « de preferencia ao longo da grande nervura longitudinal », folhas estas aproveitadas na construção das paredes dos domicilios da região. Aliás, ha 3 décadas passadas, Kirkaldy já tinha registrado identicos habitos da especie, no Hawaii, quando escreve: « Taken by beating dead branches of a species of palm in mountain forests ».

Seria interessante procurar estes hemipteros no seu *habitat* natural, as folhas destas palmeiras ainda presas ao tronco, para evidenciar que o hematofagismo nada mais é senão um habito anormal, forçado, e não deve ser generalisado a tal ponto que se torne motivo de intensas preocupações epidemiologicas, embora, de algum modo, tenha um interesse filogenetico acentuado no estudo dos hemipteros, como diz Bequaert:

« In the light of the theory of evolution, the various cases in which « hemipterous insects, that are normally predaceous or even phytophagous, « occasionally become blood-suckers, are of considerable interest. They « show that hematophagous habits may be readily and rather suddenly

« acquired by insects that have developed suitable piercing and sucking « mouth-parts, without previous adaptation to a blood diet. Moreover, « the presence of vertebrates is by no means needed for the production « of biting mouth-parts. In the case of the strictly blood-sucking reduviids, « it is evident that they are derived from predaceous members of the « same family, since they show as yet no structural modifications from the « ancestral types. »

Usinger, em 1934, tambem se ocupa da possibilidade de hemipteros normalmente fitofagos, devido a varias influencias poderem ser levados a sugar sangue, como assim termina o artigo « Blood sucking amount phytophagous hemiptera », cuja transcrição fazemos:

« In conclusion the author would state that the relatively rare phe- « nomenon of blood-sucking in the normally phytophagous groups of the « Hemiptera may be attributed to three influences, namely, the stimulus « of artificial light or other unusual conditions of the environment, the « attractive qualities of exposed liquids, mainly perspiration, and hunger. « It may also be concluded that this change is not such a profound one « as would at first be supposed. This is evidenced by a comparison of « the composition of plant juices and blood and by the various plant « feeding groups some members of which have adapted themselves to a « predaceous habit or have shown their ability to occasionally suck the « blood of mammals. These conclusions may throw some light on the « remarkable evolution of the Hemiptera into a diversity of food habits « which is so complete as to include almost all available food material. »

O hematofagismo acidental entre os hemipteros já de longa data atraiu a atenção dos investigadores, tendo suscitado não pequena bibliografia, que póde ser encontrada nos artigos que referimos no final deste trabalho.

Aproveitamos o ensejo para dar a redescrição da *Clerada apicicornis*, acompanhada de sua sinonimia cientifica e alguns desenhos originais. Antes, porém, considerando que a descrição original é feita por Signoret em um trabalho de Maillard, dificil de ser consultado devido á sua raridade, o que levou Kirkaldy, em 1902, a reproduzir a descrição original da especie, vamos reproduzi-la para facilitar a comparação.

« *Clerada* Signoret

« Genre remarquable par la position qu'occupent les ocelles au-dessous « des yeux de chaque côté de la tête, et non sur le vertex comme dans « la plupart des Lygaeites. Ce genre viendrait, à cause des divers ca- « ractères que nous allons énoncer, se ranger après les Rhyparochromides « dont il a le facies, car il ressemble à première vue à un *Platygaster*, et « avant les Anthocorides. Tête triangulaire en avant, avec un faible tuber-

« cule pour l'insertion des antennes. Troisième article des antennes le « plus petit, premier article plus court que la tête. Rostre de 4 articles, « le troisième très long, le quatriéme le plus court. Yeux moyens. Ocelles « très apparents et logès au-dessous de ceux-ci et de chaque côté du col, « qui est aussi gros que la tête au-delà des yeux. Membrane avec 4 « nervures plus ou moins flexueuses et libres. Pattes grêles.

« *Clerada apicicornis*, Signoret

« Brun foncé avec le rostre et les pattes jaune-testacé; le dernier « article des antennes blanc-jaunâtre. Pour la couleur, la taille et l'aspect « en général, cette espèce ressemble beaucoup au *Platygaster ferrugineus* « Linné, mais il s'en éloigne et par le caractère important des ocelles « et par les cuisses antérieures grêles. Tête plus longue que large, très « triangulaire en avant, aussi large postérieurement qu'au-delà des yeux. « Antennes noires sauf le dernier article, et les articulations pâles. Pro- « thorax trapézoïde, le côté de plus étroit en avant, bords latéraux lé- « gèrement relevés et sinueux. Écusson aplati, légèrement caréné à l'ex- « trémité, qui est très acuminée. Élytres brunes avec une large bande « latérale testacée. Abdomen caréné. Pattes jaunes. »

Clerada apicicornis Signoret *in* Maillard, 1863.

Clerada apicicornis Signoret *in* Maillard, 1863, p. 28, tab. 20, fig. 8.
Clerada apicicornis Stal, 1865, pp. 155-156.
Gastrodes terminalis Walker, 1872, p. 122.
Clerada apicicornis Stal, 1874, p. 143.
Clerada apicicornis Kirkaldy, 1902, pp. 160-161.
Clerada apicornis Distant, 1893, p. 394 (erro).
Clerada apicicornis Distant, 1904, pp. 45-46, fig. 32.
Clerada apicicornis Kirkaldy, 1907, pp. 151-152 (descrição da ninfa).
Clerada apicicornis Horváth, 1909, pp. 622, 623 (chave).
Clerada apicicornis Bergroth, 1914, pp. 56, 57 (chave).
Clerada apicicornis Illingworth, 1917, p. 274.
Clerada apicicornis China, 1924, p. 435.
Clerada apicicornis Bequaert, 1926, p. 188.
Clerada apicicornis Myers, 1929, p. 472.
Clerada apicicornis Castro Ferreira & Deane, 1938, pp. 1137-1141, figs. V-VIII.
Clerada apicicornis Castro Ferreira & Deane, 1938, p. 1181.
Clerada apicicornis Castro Ferreira & Deane, 1939, p. 249.

Redescrição:

Comprimento do macho: 6,5 mm.
Largura maxima (ao nivel do meio do abdomem): 2,8 mm.

Inseto pequeno, achatado, de colorido geral castanho, pouco piloso (fig. 1).

Cabeça de colorido castanho, medindo 1,2 mm. de comprimento, com região ante-ocular triangular onde se nota o *tylus* central separado das *genae*,

de forma triangular. Ao nivel do meio da cabeça, e lateralmente situados, acham-se os olhos, medianamente desenvolvidos, globosos, pretos, bem separados, com a distancia interocular quasi duas vêses a largura de um só olho. Ocelos pequenos, claros, situados atrás dos olhos, deles afastados e laterais, mais afastados entre si, superiormente, do que os olhos. Não existe pescoço nitidamente constituido, de modo que desde o bordo anterior dos olhos até o pronoto a largura é uma só (1,15 mm.), e é a maior largura da cabeça. A cabeça é pontuada e tem poucos pêlos esparsos. Antenas tetra-articuladas e grandes. Tuberculos anteniferos implantados logo adiante dos olhos, de colorido preto e curtos; 1.º articulo antenal de colorido preto, com o mesmo diametro dos tuberculos anteniferos, ultrapassando o ápice da cabeça, com pêlos curtos; 2.º articulo de diametro menor e com duas vêses o comprimento do 1.º, de colorido castanho porém com um anel preto no 1/4 apical, revestido de cerdas curtas; 3.º articulo com o mesmo diametro do 2.º, de colorido preto e com igual comprimento do 1.º articulo, revestido de cerdas curtas; 4.º articulo bem claro, amarelo claro, com cerdas mais longas, mais ou menos claviforme e de ponta afilada, um pôuco maior do que o 1.º articulo (fig. 2). Rostro com 4 articulos, achatado, de diametro uniforme e ultrapassando a inserção do 1.º par de patas, o apice atingindo o meio do mesoesterno; 1.º articulo com poucas cerdas, atingindo um pouco além do bordo anterior dos olhos; 2.º articulo quasi atingindo o limite anterior do tórax, um pouco menor do que o 1.º; 3.º articulo com o comprimento igual á soma dos dois primeiros, ultrapassando as coxas do 1.º par de patas; 4.º articulo com pêlos maiores, o menor de todos, com pouco menos do comprimento do 2.º (fig. 3).

Tórax de colorido castanho, pontuado, com poucos pêlos esparsos.

Pronoto de forma trapezoidal, sem sulcos ou tuberculos, com 1 mm. de comprimento na linha mediana e 1 mm. de largura ao nivel dos angulos anteriores ou 2 mm. ao nivel dos angulos posteriores, de bordos laterais constituidos por uma crista pouco saliente, delgada. Angulos posteriores arredondados e elevados.

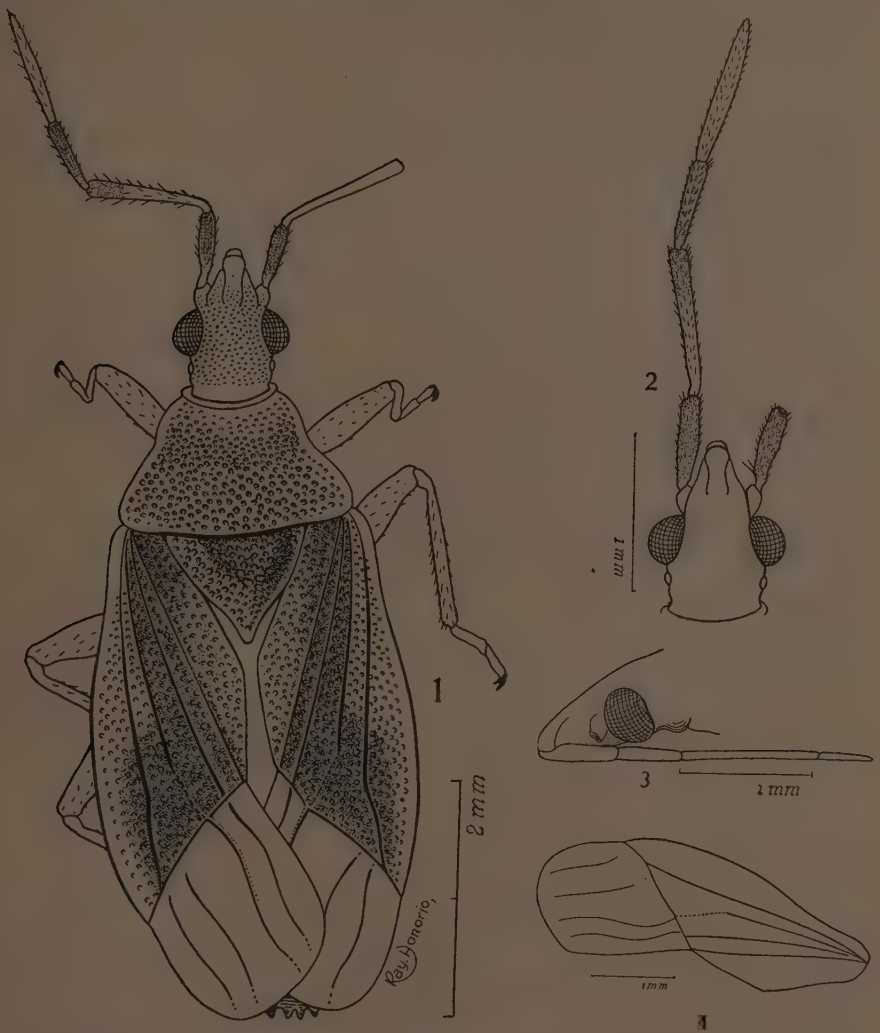
Escutelo triangular, medindo 1 mm. de comprimento na linha mediana, de lados iguais em comprimento, sem ápice afilado porém levemente achatado e levantado, com uma pequena depressão mediana que dá lugar a uma crista posterior pouco acentuada.

Pleuras sem caracteristicos importantes. Esterno tambem, sem sulco proesternal e com uma crista longitudinal mediana que parte do mesoesterno e termina atenuando-se, no 2.º segmento abdominal. Orificio da glandula odorifera no metaesterno acima das coxas do 3.º par.

Hemelitros com corio castanho, mais escuro medianamente, pontuado; membrana palida com 4 nervuras longitudinais (vide fig. 4).

Patas iguais, amarelas, revestidas de cerdas que só são maiores e mais numerosas no ápice da tibia e no 1.º articulo tarsal. Femures de comprimento igual ao das tibias, porém muito mais dilatados. Tarsos com 3 articulos, o maior sendo o 1.º, o 2.º muito pequeno e o 3.º maior que ele, os dois não atingindo o tamanho do 1.º. No 3.º articulo tarsal implantam-se um par de unhas subterminal, o arolio e 3 ou 4 cerdas apicais longas e finas terminais.

Abdomem castanho escuro, revestido de pêlos dourados, alguns maiores na linha mediana e na genitalia, com 3 mm. de comprimento medido na linha mediana inferiormente. De cada lado da linha mediana, nos 2.º e 3.º segmentos,



Clerada apicicornis Signoret *in* Maillard, 1863: — Fig. 1 — Exemplar macho adulto, procedente do Estado do Pará (Brasil), C. E. E. L. V. A. coll. et leg.; fig. 2 — cabeça e antena, vista dorsal; fig. 3 — cabeça e rostro, de perfil; fig. 4 — hemelitro. Figuras originais.

existe uma pequena elevação arredondada. São bem visiveis 5 segmentos, o 1.º é invisivel pela face inferior; o 2.º não possue estigma respiratorio; os 3.º e 4.º são quasi fundidos, a segmentação marginal tendo desaparecido; os 5.º e 6.º são fundidos, vendo-se 2 estigmas de cada lado; o 7.º é bem individualisado e a ele seguem-se os segmentos da genitalia.

* * *

Ha, tambem, outras considerações de tão grande importancia a fazer a proposito de asseverações de Castro Ferreira & Deane e que veem de encontro a tudo quanto está estabelecido a respeito do ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi*.

Afirmam estes autores (1938 *a* e *d*, 1939) que, examinando as fezes de adultos de *Clerada apicicornis* e *Rhodnius pictipes*, 72 horas e 24 horas, respectivamente, após o repasto infestante, encontraram tripanosomas metaciclicos e critidias. Tal comprovação foge a todos os conhecimentos adquiridos sobre a evolução do *S. cruzi* no organismo dos invertebrados. Em 1934, E. Dias demonstrou que os tripanosomas metaciclicos apresentam-se nas fezes com mais rapidez nas larvas do que nos adultos, assim mesmo necessitam pelo menos de 6 dias para que isto ocorra nas larvas, emquanto que precisam de 10 a 15 dias para que se apresentem nos adultos. Brumpt, no seu conhecido compendio, tambem assinala que os insetos só eliminam tripanosomas metaciclicos entre 8 a 20 dias após se terem infestado. Caso as observações de Castro Ferreira & Deane se confirmem terão, de fáto, trazido contribuição de vulto sobre a evolução de um flagelado tão estudado. Para nós, entretanto, estas comprovações estão muito obscuras e qualquer opinião que sobre elas se possa fazer não passará de méra suposição.

Aproveitando o ensejo que nos proporciona o presente trabalho, vamos conclui-lo com algumas considerações que teem por fim terminar com a grande confusão reinante na literatura a proposito das verificações até agora feitas sobre a infestação de triatomideos pelo *Schizotrypanum cruzi*, quer considerando-se a infestação natural, quer a obtida experimentalmente, em laboratorio.

Isto porque a bibliografia sobre o assunto foi se tornando muito extensa e disseminada e os autores teem a tendencia de repetir sempre as opiniões que encontram em trabalhos de conjunto sobre doença de Chagas, não se dando ao trabalho de procurar verificar a correção das citações.

Desde os trabalhos de Pinto (1923), Neiva & Pinto (1923) e Lessa (1923), através as publicações de Pinto (1925, 1930, 1931 e 1938), Manteufel & Taute (1930), Hase (1932), E. Chagas (1935), Ruge & Roeper (1937) até a recente nota de Brumpt (1939), certas incorreções e omissões

veem sendo repetidas, motivo pelo qual procuramos revêr toda a bibliografia sobre este assunto.

No que se refere á infestação em natureza já possuimos uma extensa lista de triatomideos observados, conforme é possivel verificar no quadro que publicamos onde, pela ordem cronologica da verificação da infestação, encontramos os nomes corretos dos triatomideos, o autor que comprovou pela primeira vês o fato e os paises onde as especies foram referidas como infestadas, a primeira citação sendo aquela que teve a precedencia.

Naturalmente, sabemos que qualquer especie de triatomideo póde ser encontrada infestada pelo *S. cruzi*, mas a catalogação precisa daquelas que até agora assim foram verificadas é muito util á epidemiologia da doença de Chagas. Tambem, por certo, qualquer especie de triatomideo poderá ser infestada experimentalmente por este flagelado, como ainda varios outros artropodos, hematofagos estritos ou não, já o foram, o que não impede, entretanto, que se procure relacionar aqueles que assim foram referidos até agora, o que fizemos, tambem, a seguir.

ESPECIES DE TRIATOMIDEOS INFESTADAS EM NATUREZA PELO *SCHIZOTRYPANUM CRUZI*

ESPECIE	PRIMEIRA VERIFICAÇÃO POR:	PAISES
1. *Panstrongylus megistus* (Burm., 1835) Pinto 1931	Chagas (1909)	*Brasil*, Paraguai
2. *Panstrongylus geniculatus* (Latr., 1811) Pinto, 1931	Chagas (1912)	*Brasil*, Panamá, Venezuela
3. *Eutriatoma sordida* (Stal, 1859) Pinto, 1931 *	Carini & Maciel (1914)	*Brasil*, Argentina
4. *Triatoma infestans* (Klug, 1834) Neiva, 1913 *	Carini & Maciel (1914)	*Brasil*, Argentina, Uruguai, Chile
5. *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) Neiva, 1914	Neiva (1914)	*Brasil*
6. *Triatoma chagasi* Brumpt & Gomes, 1914	Brumpt & Gomes (1914)	*Brasil*
7. *Triatoma maculipennis* (Stal, 1859) Neiva, 1914 *	Hurtado *in* Neiva (1915); Segovia (1922)	*Salvador*, Mexico
8. *Triatoma protracta* (Uhler, 1894) Neiva, 1914	Kofoid & McCulloch (1916); Kofoid & Donat (1933)	*U. S. A.*
9. *Rhodnius prolixus* Stal, 1859	Tejera (1919)	*Venezuela*, Mexico, Colombia

10. *Eratyrus cuspidatus* * Stal, 1859	Tejera *in* Lavier (1921)	*Venezuela*, Panamá
11. *Rhodnius brumpti* * Pinto, 1925	Neiva & Pinto *in* Pinto (1923); Pinto (1924 e 1925)	*Brasil*
12. *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911	Pinto (1923)	*Brasil*
13. *Eutriatoma rubrovaria* (Blanch. *in* Blanch. & Brullé, 1843) Pinto, 1931	Gaminara (1923)	*Uruguai*
14. *Rhodnius pallescens* Barber, 1932	Dunn (1933)	*Panamá*
15. *Triatoma dimidiata* (Latr., 1811) Neiva, 1914	Reichenow (1934)	*Guatemala*, Panamá, Mexico
16. *Eutriatoma uhleri* (Neiva, 1911) Pinto, 1931	Kofoid & Whitaker (1936)	*U. S. A.*
17. *Eutriatoma maculata* (Erichson, 1848) Pinto, 1931	Dias & Torrealba (1936)	*Brasil, Venezuela*
18. *Eutriatoma oswaldoi* (Neiva, & Pinto, 1923) Pinto, 1931	Mazza (1936)	*Argentina*
19. *Triatoma platensis* * Neiva, 1913	Mazza (1936)	*Argentina*
20. *Triatoma phyllosoma* (Burm., 1835) Del Ponte, 1930	Mazzotti (1936)	*Mexico*
21. *Triatoma pallidipennis* (Stal, 1872) Pinto, 1927	Mazzotti (1937)	*Mexico*
22. *Triatoma rubida* (Uhler, 1894) Neiva, 1914	Mazzotti (1939)	*Mexico*
23. *Triatoma barberi* * Usinger, 1939	Mazzotti (1939)	*Mexico*
24. *Triatoma picturata* * Usinger, 1939	Mazzotti (1939)	*Mexico*
25. *Psammolestes arthuri* * (Pinto, 1926) Pinto & Lent, 1935	Pifano *in* Brumpt (1939)	*Venezuela*
26. *Eutriatoma nigromaculata* (Stal, 1872) Lent & Pifano, 1939	Lent & Pifano (1939)	*Venezuela*
27. *Triatoma gerstaeckeri* (Stal, 1859) Neiva, 1914	Packchanian (1939)	*U. S. A.*
28. *Triatoma spinolai* Porter, 1934	Gajardo (1939)	*Chile*

* Sobre esta especie vide observações a seguir.

Eutriatoma sordida e *Triatoma infestans* teem sido referidas na bibliografia como achadas infestadas por Chagas, em 1912, o que de fato não ocorreu.

Triatoma maculipennis, proveniente do Salvador, foi determinada por Neiva, em 1915, como *T. dimidiata maculipennis*. Para os autores que não consideram *T. maculipennis* como bôa especie, esta é a primeira referencia para *T. dimidiata*.

Não encontramos trabalho algum de Tejera, em 1919, assinalando a infestação em natureza do *Eratyrus cuspidatus*; pensamos que a primeira referencia desta observação, comunicada a Brumpt por carta, foi publicada á pagina 85 do trabalho de Lavier (1921).

Em 1923, Pinto publicou uma nota que, no ano seguinte confirmou, dizendo ter, em colaboração com Neiva, encontrado *Rhodnius pictipes* naturalmente infestado, mas em 1925 retificou a determinação desta especie para *Rhodnius brumpti*. Hase, em 1932, não encontrou *Rhodnius pictipes* naturalmente infestado, nos exemplares que capturou em Puerto La Cruz (Venezuela).

Não incluimos aqui a referencia da infestação de *Triatoma rosenbuschi*, que ainda consideramos sinonimo de *Triatoma platensis*.

Triatoma barberi e *Triatoma picturata* foram assinaladas por Mazzotti (1939) ainda como *Triatoma spp.* porque Usinger não as havia descrito no momento. *T. barberi* é o inseto apresentado na fig. 2 do trabalho de Mazzotti e *T. picturata* é o da fig. 1.

O encontro de *Psammolestes arthuri* infestado em natureza por Pifano foi verificado em Yaracuy (Venezuela), como nos informou em carta este colega, e não no Paraguai, como refere Brumpt (1939).

LISTA DOS ARTROPODOS INFESTADOS EXPERIMENTALMENTE PELO *SCHIZOTRYPANUM CRUZI*

ESPECIE	AUTOR
Hemiptera — Triatomidae	
1. *Panstrongylus megistus* (Burm., 1835)	Chagas, 1909
2. *Triatoma infestans* (Klug, 1834)	Chagas & Machado *in* Chagas, 1912
3. *Rhodnius prolixus* Stal, 1859	Brumpt & Lugo, 1913
4. *Eutriatoma sordida* (Stal, 1859)	Neiva, 1913
5. *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773)	Neiva, 1914
6. *Triatoma chagasi* Brumpt & Gomes, 1914	Brumpt, 1914
7. *Triatoma sanguisuga* (Leconte, 1855)	Brumpt, 1914 e 1919

8.	*Eutriatoma flavida* (Neiva, 1911)	Giordano, 1930
9.	*Triatoma protracta* (Uhler, 1894)	Wood, 1934
10.	*Psammolestes coreodes* Bergroth, 1911	Dias, 1936
11.	*Triatoma platensis* Neiva, 1913	Mazza, Basso & Basso, 1936
12.	*Eutriatoma maculata* (Erichson, 1848)	Dias & Torrealba, 1936
13.	*Eutriatoma patagonica* (Del Ponte, 1929)	Mazza, 1937
14.	*Psammolestes arthuri* (Pinto, 1926)	Torrealba, 1937
15.	*Rhodnius pictipes* Stal, 1872	Castro Ferreira & Deane, 1938
16.	*Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911	Castro Ferreira & Deane, 1938
17.	*Triatoma dimidiata* (Latr., 1811)	Castro Ferreira & Deane, 1938
18.	*Eutriatoma rubrovaria* (Blanch. *in* Blanch. & Brullé, 1843)	Castro Ferreira & Deane, 1938
19.	*Eutriatoma nigromaculata* (Stal, 1872)	Lent & Pifano, 1939
	Hemiptera — Cimicidae	
20.	*Cimex lectularius* L., 1758	Brumpt, 1912
21.	*Leptocimex boueti* (Brumpt, 1910)	Brumpt, 1912
22.	*Cimex hemipterus* (Fabr., 1803)	Brumpt, 1913
23.	*Cimex hirundinis* Jenyns, 1839	Brumpt, 1919
24.	*Cimex sp.*	Brumpt *in* Brumpt, Mazzotti & Brumpt, 1939
25.	*Cimex stadleri* Horváth, 1935	Brumpt *in* Brumpt, Mazzotti & Brumpt, 1939
	Hemiptera — Reduviidae	
26.	*Apiomerus pilipes* Fabr.	Uribe, 1926
	Hemiptera — Lygaeidae	
27.	*Clerada apicicornis* Signoret *in* Maillard, 1863	Castro Ferreira & Deane, 1938
	Diptera — Hippoboscidae	
28.	*Melophagus ovinus* (L., 1761)	Rodhain & Brutsaert, 1935
	Lepidoptera — Pyralidae	
29.	*Galleria mellonella* (lagarta)	Hoare, 1938
	Acarina — Ixodidae	
30.	*Rhipicephalus sanguineus* (Latr., 1806)	Neiva, 1913
31.	*Ornithodoros moubata* (Murray, 1877)	Brumpt, 1912
32.	*Ornithodoros savignyi* (Audouin, 1827)	Brumpt, 1922
33.	*Ornithodoros talaje* Guérin-Méneville, 1849	Dunn, 1934
34.	*Ornithodoros venezuelenses* Brumpt, 1921	Dunn, 1934
35.	*Ornithodoros lahorensis* Neumann, 1908	Brumpt, 1936

36.	*Ornithodoros coniceps* Canestrini, 1890	Brumpt *in* Brumpt, Mazzotti & Brumpt, 1939
37.	*Ornithodoros migonei* Brumpt, 1936	Brumpt *in* Brumpt, Mazzotti & Brumpt, 1939
38.	*Ornithodoros nicollei* Mooser, 1932	Brumpt *in* Brumpt, Mazzotti & Brumpt, 1939
39.	*Ornithodoros rostratus* Aragão, 1911	Brumpt *in* Brumpt, Mazzotti & Brumpt, 1939
40.	*Ornithodoros tholozani* Laboulbène & Megnin, 1882	Brumpt *in* Brumpt, Mazzotti & Brumpt, 1939
41.	*Ornithodoros turicata* (Dugès, 1876)	Brumpt *in* Brumpt, Mazzotti & Brumpt, 1939
42.	*Amblyomma cajennense* (Fabr., 1787)	Pinto, 1920

Acompanhando a opinião de Dias (1936) poderiamos acrescentar a esta lista os provaveis transmissores do *Schizotrypanum vespertilionis*, ectoparasitos de morcegos: *Cimex pipistrelli* Jenyns, 1839 — cf. Pringault, 1914; *Leiognathus arcuatus* — cf. Gonder, 1910; e *Leiognathus laverani* — cf. Franchini, 1921.

Os quadros acima, que não deram pouco trabalho para confecciona-los pois tivemos de fazer rigorosas investigações bibliograficas, se, porventura, incluem, todos os artropodos encontrados infestados naturalmente pelo *Schizotrypanum cruzi* ou experimentalmente no laboratorio, não registraram, comtudo, um provavel, senão seguro método de transmissão deste flagelado, que até hoje se mantém inédito.

Recentemente, Brumpt (1939) sugere que póde haver um método de infecção por aquele tripanosomideo, até então não registrado, qual o da contaminação direta que póde ocorrer quando caçadores ou taxidermistas entram em contacto com o sangue de animais silvestres infectados, lembrando, entre outros, o tatú.

O prof. Brumpt, que conhece Lassance, local onde se originaram as notaveis pesquisas de Carlos Chagas, não teve oportunidade de ouvir dos habitantes daquela zona um fáto que vem confirmar o que escreve. Narrou-nos Cesar Pinto, que ali trabalhou algum tempo, ter sabido que é uso entre os habitantes da região esfregar sangue de tatú sobre a pele das crianças recem-nascidas. Ignora, porém, qual a origem de tão extravagante habito. Apenas sabe, porque verificou, que os tatús de Lassance aparecem infestados com *Schizotrypanum cruzi* na proporção de 30 a 50%. Informações posteriores que obtivemos confirmam este habito em outras localidades do Estado de Minas Gerais.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

BANKS, C. S.

1919. The bloodsucking insects of the Philippines. Philip. Jour. Sci., **14** (2) : 169-189.

BEQUAERT, J.

1926. Medical and Economic Entomology. *In* Medical Report of the Hamilton Rice Seventh Expedition to the Amazon. Contr. Harvard Inst. Trop. Biol. & Med., no. 4, pp. 157-257, figs. (*cf.* pp. 186-188).

BERGEVIN, E.

1923. Note à propos de la capture, à In-Salah de *Leptodemus minutus* Jak. (Hémiptère Oxycareninae). Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord, **14** (1) : 27-28.

1923. A propos de quelques nouveaux hémiptères piqueurs. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord, **14** (6) : 226-228.

1924. Nouvelles observations sur les Hémiptères suceurs de sang humain. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord, **15** (6) : 259-262, fig. 1.

1925. Les Hémiptères suceurs de sang. Espèces se révélant occasionnellement suceuses de sang humain. Description d'une nouvelle espèce d'*Athysanus* (Hémiptère-Homoptère) suceuse de sang humain de l'Extrême-Sud algérien. Arch. Inst. Pasteur Algérie, **3** (1) : 28-44, figs. 1-9.

BERGROTH, E.

1914. On an hemipterous insect from an Australian opossum's nest. Trans. Roy. Soc. S. Australia, **38** : 53-57.

BRUMPT, E.

1912. Le *Trypanosoma Cruzi* évolue chez *Conorhinus megistus, Cimex lectularius, Cimex Boueti* et *Ornithodorus moubata*. Cycle évolutif de ce parasite. Bull. Soc. Path. Exot., **5** : 360-364, fig. 1.

1913. Immunité partielle dans les infections à *Trypanosoma Cruzi*, transmission de ce trypanosome par *Cimex rotundatus*. Rôle régulateur des hotes intermédiaires. Passage à travers la peau. Bull. Soc. Path. Exot., **6** (3) : 172-176.

1914. Réduvides de l'Amérique du Nord capables de transmettre le *Tryp. Cruzi*. Bull. Soc. Path. Exot., **7** (2) : 132-133.

1914. Le Xénodiagnostic. Application au diagnostic de quelques infections parasitaires et en particulier à la Trypanosomose de Chagas. Bull. Soc. Path. Exot., **7** (10) : 706-710.

1919. Maladie de C. Chagas, au Brésil. Mode de transmission, origine, conditions qui déterminent sa répartition actuelle. Bull. Acad. Méd., 3è. sér., **81** : 251-253.

1922. Précis de Parasitologie, 3è. ed. — Paris.

1936. Évolution expérimentale de l'*Ornithodorus lahorensis*. Similitude biologique des stades post-embryonaires de cet Argasiné, et de ceux de l'*O. megnini*. Rôle pathogène éventuel. Ann. Parasit., **14** (6) : 632-639, figs. 1-3.

1939. Quelques faits épidémiologiques concernant la maladie de C. Chagas. Presse Méd., **47** (54) : 1081-1085, figs. 1-14.

BRUMPT, E. & GOMES, J. F.

1914. Descripção de uma nova especie de *Triatoma (T. chagasi)* hospedeiro primitivo do *Trypanosoma cruzi* Chagas. Ann. Paul. Med. e Cir., **3** (4) : 73-77, 1 fig. (em port. e franc.).

BRUMPT, E. & GONZALEZ-LUGO

1913. Présentation d'un Réduvide du Vénézuela, le *Rhodnius prolixus*, chez lequel évolu *Trypanosoma Cruzi*. Bull. Soc. Path. Exot., **6** (6) : 382-383.

BRUMPT, E., MAZZOTTI, L. & BRUMPT, L. C.

1939. Enquetes épidémiologiques sur la maladie de C. Chagas au Méxique. Réduvidés vecteurs. Animaux réservoirs de virus. Cas humains. Ann. Parasit., **17** (4) : 299-312, pls. 21-25, figs. 1-10.

CARINI, A. & MACIEL, J.

1914. Existence de la maladie de Chagas dans l'État de São Paulo. Bull. Soc. Path. Exot., **7** (4) : 289-292.

1914. Distribution des Triatomes dans l'État de São Paulo. Bull. Soc. Path. Exot., **7** (4) : 292-295, 1 mappa.

1915. Sobre o hematophagismo do *Apiomerus nigrilobus* Stal. Brasil-Medico, **29** (12) : 89-90.

CARLO, J. A. DE

1939. Breves datos sobre los *Belostomidae* (Hemipteros) de la Argentina 9.ª Reún. Soc. Argent. Pat. Reg., Mendoza, **1**, **2**, **3** y **4** Oct. 1935, **3** : 1471-1475, láms. 1-2.

CASTRO FERREIRA, L. & DEANE, L.

1938 *a*. Infecção experimental do *Rhodnius pictipes* Stal, 1872, pelo *Schizotrypanum cruzi* (Chagas, 1909). Brasil-Medico, **52** (49) : 1093, 1 fig.

1938 *b*. Encontro de um novo hematophago do homem com habitos domiciliares (Nota prévia). Brasil-Medico, **52** (51) : 1137-1141, figs. I-XI.

1938 *c*. Novo depositario sylvestre do *Schizotrypanum cruzi* (Chagas, 1909) : a irára, *Tayra barbara* (L.). Brasil-Medico, **52** (52) : 1159-1161, figs. 1-6.

1938 *d*. Infecção experimental do *Clerada apicicornis* Signoret, 1863, pelo *Schizotrypanum cruzi* (Chagas, 1909) (Nota prévia). Brasil-Médico, **52** (53) : 1181.

1939. Transmissão experimental do *Schizotrypanum cruzi* (Chagas, 1909) pelo *Clerada apicicornis* Signoret, 1863 (Nota prévia). Brasil-Medico, **53** (6) : 249.

CHAGAS, C.

1909. Nouvelle espèce de trypanosomiase humaine. Bull. Soc. Path. Exot., **2** (6) : 303-307.

1909. Nova tripanozomiase humana. Estudos sobre a morfolojia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., ajente etiolojico de nova entidade morbida do homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, **1** (2) : 159-218, figs. 1-10, ests. 9-13 (em port. e allem.).

CHAGAS, C.

1912. Sobre um tripanosomo do tatú *(Tatusia novemcincta)* transmittido pela *Triatoma geniculata* (Latr., 1811). Possibilidade de ser o tatú um depositario do *Trypanosoma cruzi* no mundo exterior (Nota prévia). Brasil-Medico, **26** (30) : 305-306.

CHAGAS, E.

1935. Summula dos conhecimentos actuaes sobre a trypanosomiasis americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, **30** (5) : 387-416.

CHINA, E. W.

1924. The Hemiptera-Heteroptera of Rodriguez. Ann. Mag. Nat. Hist. Lond., 9. ser., **14** : 427-453, figs. 1-4.

CLARK, H. C. & DUNN, L. H.

1932. Experimental studies on Chagas' disease in Panama. Amer. Jour. Trop. Med., **12** (1) : 49-77.

DIAS, E.

1934. Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, **28** (1) : 1-110, ests. 1-12, figs. 1-21.

1936. Revisão geral dos hemoflagellados de Chiropteros. Estudo experimental do *Schizotrypanum* de *Phyllostomus hastatus:* identidade com *Schizotrypanum cruzi*. O grupo *Vespertilionis*. 9.ª Reun. Soc. Argent. Pat. Reg., Mendoza, 1, 2, 3 y 4 Oct. 1935, **1** : 10-88, figs. 1-11, ests. 1-3.

DIAS, E. & TORREALBA, J. F.

1936. Breve nota acerca del *Triatoma* o *Eutriatoma* maculata (Erichson, 1848) Pinto, 1931. Comprobación de su infestación en la naturaleza por *Schizotrypanum cruzi*. Gac. Med. Caracas, **43** (24) : 377-379.

1938. Infecção natural do *Eutriatoma maculata* pelo *Schizotrypanum cruzi*, no Brasil e na Venezuela. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, **33** (2) : 249-252, 1 est., 1 fig.

DISTANT, W. L.

1904. The Fauna of British India. Rhynchota, **2** : XVII + 503 pp., 319 figs.

DUNN, L. H.

1933. A natural infection of *Trypanosoma cruzi* Chagas found in *Rhodnius pallescens* Barber in Panama. Amer. Jour. Trop. Med., **13** (5) : 471-473.

1934. Attempts to transmit *Trypanosoma cruzi* Chagas with ticks of the genus *Ornithodoros*. Amer. Jour. Trop. Med., **14** (3) : 283-289.

1934. Notes on the Reduviid bug, *Eratyrus cuspidatus* Stal, naturally infested with *Trypanosoma cruzi* Chagas found in Panama. Amer. Jour. Trop. Med., **14** (3) : 291-292.

EWING, H. E.

1928. Observations on the habits and the injury caused by the bites or stings of some North American arthropods. Amer. Jour. Trop. Med., **8** (1) : 39-62, figs. 1-4.

FLANDES, F. B.

1938. Anotaciones sobre Triatomas y Tripanosomas. Rev. Med. Veracruzana, **18** (5) : 2533-2538, figs. 1-4.

FRANCHINI, G.

1921. Trypanosome de la chauve-souris en Italie. Formes viscérales et stades de dévelopment chez un acarien gamaside, le *Leiognathus laverani* n. sp. Bull. Soc. Path. Exot., **14** : 542-546, figs. 1-2.

GAJARDO TOBAR, R.

1939. *Schizotrypanum cruzi* y sus agentes vectores en Chile. Rev. Chil. Hist. Nat., **42** : 132-137, lám. 9, 2 figs.

GAMINARA, A.

1923. Estudio experimental sobre *Schizotrypanum cruzi* y enfermedad de Chagas en el Uruguay. Anal. Fac. Med. Montevideo, **8** (3/4) : 311-359, láms. 1-9.

GIORDANO, M.

1930. Sulla possibilità di infettare il *Triatoma flavida* con il *Trypanosoma cruzi*. Arch. Ital. Sci. Med. Colon., **11** (4) : 193-195, figs. 1-2.

GONDER, R.

1910. *Trypanosoma vespertilionis* (Battaglia). Centralbl. f. Bakt., Orig., **53** : 293-302, 1 fig., taf. 1-2, figs. 1-38.

HASE, A.

1932. Beobachtungen an venezolanischen *Triatoma*-Arten, sowie zur allgemeinen Kenntnis der Familie der *Triatomidae* (Hemipt.-Heteropt.). Beitraege zur experimentellen Parasitologie. 8. Zeits. f. Parasitenk., **4** (4) : 585-652, figs. 1-27, 1 map.

HOARE, C. A.

1938. Miscellanea Protistologica. II. Development of mammalian trypanosomes in the body-cavity of caterpillars. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg., **32** (1) : 8-9.

HOFFMANN, C. C.

1928. Nota acerca de un probable transmisor de la trypanosomiasis humana, en el Estado de Veracruz. Rev. Mex. Biol., **8** (10) : 7 pp., 6 figs.

HORVATH, G.

1909. Species generis Lygaeidarum Clerada Sign. Ann. Mus. Nat. Hung., **7** : 622-625.

IHERING, R. VON

1911. Percevejos brasileiros hematophagos. Chacaras e Quintaes, **3** (2) : 23-25, figs. 1-7.

ILLINGWORTH, J. F.

1917. *Clerada apicicornis* sucking blood (Hemip.). Proc. Hawaiian Ent. Soc., **3** (4) : 274.

KIRKALDY, G. W.

1902. Hemiptera. Fauna Hawaiiensis, **3** : 93-174, pls. 4-5, figs. 1-50a.

1907. Biological notes on the Hemiptera of the Hawaiian Isles. N.º 1. Proc. Hawaiian Ent. Soc., **1** : 135-161, figs. 1-4.

KOFOID, C. A. & DONAT, F.

1933. South American trypanosomiasis of the human type — occurrence in mammals in the United States. Calif. and West Med., **38** (4) : 245- (separado com 12 pp., 5 figs.).

1933. Experimental infection with *Trypanosoma cruzi* from intestine of cone-nose bug, *Triatoma protracta*. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., **30** : 489-491.

KOFOID, C. A. & MC CULLOCH, I.

1916. On *Trypanosoma triatomae*, a new flagellate from a hemipteran bug from the nests of the wood rat, *Neotoma fuscipes*. Univ. Calif. Publ. Zool., **16** : 113-126.

KOFOID, C. A. & WHITAKER, B. G.

1936. Natural infection of American human trypanosomiasis in two species of cone-nosed bugs, *Triatoma protracta* Uhler and *Triatoma uhleri* Neiva, in the Western United States. Jour. Parasit., **22** (3) : 259-263.

LAVIER, G.

1921. Les parasites des invertébrés hématophages. Parasites qui leur sont propres. Parasites qu'ils transmettent aux vertébrés. Thèse Fac. Méd. Paris, 218 pp., figs.

LENT, H. & PIFANO C., F.

1939. *Eutriatoma nigromaculata* (Stal, 1872) n. comb., especie venezuelana encontrada infestada pelo *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1909. Brasil-Medico, **53** (27) : 685-686, 1 fig.

LUTZ, A., SOUZA ARAUJO, H. C. & FONSECA, O.

1918. Viagem scientifica no Rio Paraná e a Assuncion com volta por Buenos Aires, Montevidéo e Rio Grande. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, **10** (2) : 104-173, ests. 20-75, figs. 1-108.

MAGGIO, C. & ROSENBUSCH, F.

1914. Estudio de los Trypanosomas de las Vinchucas de la República Argentina (*Triatoma infestans*, Klug). Anal. Dep. Nac. Hig. B. Aires, **21** (4) : 220-228, 1 graf.

MANTEUFEL, P. & TAUTE, M.

1930. Trypanosomen des Menschen. *In* Handb. d. pathog. Mikroorg., Kolle, Kraus & Uhlenhuth, **7** (2) : 1139-1310, 51 figs., 2 taf. — 3.ª ed.

MAZZA, S.

1936. Infestación de *Triatoma* por *Schizotrypanum cruzi* y hallazgo de animales domésticos portadores del mismo en el sur de la República (Rio Negro y provincia de Buenos Aires). Nueva especie de *Triatoma* determinada en Rio Negro. Mis. Est. Pat. Reg. Argent., Publ. 26 (I) : 1-19, figs. 1-12.

1936. Hallazgos de *Eutriatoma Oswaldoi* en el noroeste argentino. 9.ª Reun. Mis. Est. Pat. Reg. Arg., Mendoza, 1, 2, 3, y 4 Oct., 1935, **1** : 174-177, 1 fig.

1937. Posición sistématica de *Eutriatoma (Triatoma) patagonica* (Del Ponte, 1929) nov. comb. Mis. Est. Pat. Reg. Argent., Publ. 30 (II) : 5-29, figs. 1-20.

1939. A propos du Procès-verbal. Presentée par M. Marchoux. Bull. Soc. Path. Exot., **32** (5) : 450-451, 1 fig.

1939. Inexistencia de un síntoma patognomónico en formas agudas de Enfermedad de Chagas. Prensa Med. Argent., **26** (33) : 1569-1580.

MAZZA, S., BASSO, G. & BASSO, R.

1936. Hallazgo de *T. platensis* en nidos de dendrocolaptidae de las provincias de Córdoba y Mendoza. Demonstración experimental de la capacidad de transmitir *S. cruzi* de esta especie de triatomideo. Mis. Est. Pat. Reg. Argent., Publ. 29 (II) : 18-21.

MAZZOTTI, L.

1936. Investigación sobre la existencia de la enfermedad de Chagas en el país. Demonstración de tripanosomas en los reduvideos transmisores. Medicina, **16** : 584-585.

1937. Infección natural de *Trypanosoma Cruzii* de Chagas, en *Triatoma Phyllosoma,* Burmeister y *Triatoma Pallidipennis,* Stal, de la Costa del Pacífico de México. Medicina, **17** (289) : 6 pp., 6 figs.

1938. Dos notas en relación con la enfermedad de Chagas. I. Presencia de *Rhodnius prolixus* Stal, en Mexico. II. Tripanosoma cruzi en un armadillo de Colima. Labor Médica, **6** (9) : 140.

1939. Infección Natural por *Trypanosoma Cruzi* en Otra Especie de *Triatoma.* Medicina. Rev. Mexic., **19** (342) : 197-199, figs. 1-2.

MYERS, J. G.

1929. Facultative blood-sucking in phytophagous Hemiptera. Parasitology, **21** (4) : 472-480.

NEIVA, A.

1913. Da transmissão do *Trypanosoma cruzi* pela *Triatoma sordida* Stal. Brasil-Medico, **27** (30) : 309.

1913. Transmissão do *Trypanosoma cruzi* pelo *Rhipicephalus sanguineus* (Latr.). Brasil-Medico, **27** (46) : 498.

1914. Presença em uma localidade do Estado do Rio de um novo transmissor da « Molestia de Chagas encontrado infectado em condições naturaes. (Nota prévia). Brasil-Medico, **28** (35) : 333-335.

NEIVA, A.

1914. Revisão do genero *Triatoma* Lap. These de livre docencia. Rio de Janeiro, 80 pp.

1914. Contribuição para o estudo dos reduvidas hematofagos. I. Notas sobre os reduvidas hematofagos da Bahia com a descrição de nova especie. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, **6** (1) : 35-39 (em port. e alem.).

1915. Contribuição para o conhecimento dos hemipteros hematophagos da America Central (Nota prévia). Brasil-Medico, **29** (1) : 1-3.

NEIVA, A. & LENT, H.

1936. Notas e commentarios sobre triatomideos. Lista de especies e sua distribuição geographica. Rev. Ent., **6** (2) : 153-190.

NEIVA, A. & PINTO, C.

1922. De um novo hemiptero hematophago brasileiro (*Triatoma fluminensis* nov. sp.). Brasil-Medico, **36** (51) : 402-403.

1923. Dos reduvideos hematophagos encontrados no Districto Federal e Estado do Rio de Janeiro com a descripção de uma especie nova. Brasil-Medico, **37** (4) : 45-47.

1923. Chave dos reduvideos hematophagos brasileiros; habitos, synonimia e distribuição. Brasil-Medico, **37** (8) : 98-104, figs. 1-6.

PACKCHANIAN, A.

1939. Natural infection of *Triatoma gerstakeri* with *Trypanosoma cruzi* in Texas. Publ. Health Rep., **54** (34) : 1547-1554, pls. 1-10.

PINTO, C.

1920. Sobre a transmissão do *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) do tatú ao cobayo pela picada de Ixódidas. Arch. Paranaenses Med., **1** (6) : 165-170.

1923. Transmissão dos Protozoarios. Sci. Med., **1** (1) : 17-36.

1923. O *Triatoma brasiliensis* Neiva transmitte o *Trypanosoma cruzi* Chagas. Brasil-Medico, **37** (6) : 73.

1924. Sobre um reduvideo transmissor do *Trypanosoma cruzi*. Sci. Med., **2** (8) : 426-427, 1 fig.

1925. Ensaio monographico dos reduvideos hematophagos ou « barbeiros ». These Fac. Med. Rio de Janeiro, 118 pp., figs. 1-58.

1931. Valor do rostro e antenas na caracterisação dos generos de Triatomideos (Hemiptera, Reduvidioidea). Bol. Biol., **19** : 45-136, 70 figs., 1 quadro.

1938. Zoo-Parasitos de interesse medico e veterinario. 376 pp., ests., figs., quadros — Rio de Janeiro.

PRINGAULT, E.

1914. *Cimex pipistrelli* Jen., agent de la transmission de la trypanosomiase des chauves-souris. C. R. Soc. Biol., **76** : 881-883.

REICHENOW, E.

1934. Beitraege zur Kenntnis der Chagaskrankheit. Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg., **38** (11/12) : 459-518, figs. 1-6.

Rey Matiz, H. & Ucros Guzman, H.

1939. Nota preliminar sobre el hallazgo del *Schizotrypanum cruzi* y del *Trypanosoma rangeli* en el *Rhodnius prolixus* en algunas regiones del Oriente de Cundinamarca. Rev. Fac. Med. Bogotá, **8** (2) : 76-78.

Risquez, J. R.

1934. Tripanosomosis de los reduvideos de Venezuela. Gac. Med. Caracas, **41** (7) : 97-100.

Rodhain, J. & Brutsaert, P.

1935. L'évolution des *Trypanosoma lewisi* et *Trypanosoma cruzi* chez *Melophagus ovinus*, C. R. Soc. Biol., **118** : 1228-1231.

Rozeboom, L. E.

1936. *Triatoma dimidiata* Latr., found naturally infected with *Trypanosoma cruzi* Chagas in Panama. Amer. Jour. Trop. Med., **16** (4) : 481-484.

Ruge, H. & Roeper, E.

1937. Der Heutige Stand der Chagaskrankheit mit besonderer Beruecksichtigung der Epidemiologie und der Uebertragungsversuche auf Saeugetiere. Ergebn. d. Hyg., Bakt., Immunit. u. Exp. Therap., **19** : 352-463, figs. 1-20.

Sassi, M. M.

1931. El Tripanosoma cruzi en los alrededores de Melipilla. Rev. Inst. Bact. Chile, **2** (2) : 87-89, 1 fig.

Segovia, J. C.

1922. Tripanosomiasis en el Salvador. 6.º Congr. Lat.-Amer., Habana, 19 pp., 1 fig. (sep.).

Stal, C.

1865. Hemiptera Africana, **2**.

1874. Enumeratio Hemipterorum. Parte 4. Svenska Vet.-Ak. Handl., **12** (1) : 1-186.

Tejera, E.

1919. La Trypanosomose américaine ou maladie de Chagas au Vénézuela. Bull. Soc. Path. Exot., **12** (8) : 509-513.

1919. La Tripanosomosis americana o enfermedad de Chagas, en Venezuela. Gac. Med. Caracas, **26** (10) : 104-108.

1919. Primer caso de Tripanosomosis americana en el Estado Miranda. Gac. Méd. Caracas, **26** (11) : 113.

Torrealba, J. F.

1937. Más investigaciones para el estudio de la enfermedad de Chagas en el Distrito Zaraza. 45 pp., figs. — Caracas.

Uribe, C.

1926. A new invertebrate host of *Trypanosoma cruzi* Chagas. Jour. Parasit., **12** (4) : 213-215, 1 fig.

USINGER, R. L.

1934. Blood sucking among phytophagous Hemiptera. Canad. Ent., **66** (5) : 97-100.

1939. Descriptions of new *Triatominae* with a key to genera (Hemiptera, Reduviidae). Univ. California Publ. Ent., **7** (3) : 33-56, pl. 1, 2 figs.

WOOD, F. D.

1934. Natural and experimental infection of *Triatoma protracta* Uhler and mammals in California with American Human trypanosomiasis. Amer. Jour. Trop. Med., **14** (6) : 497-517, pls. 1-3, figs. 1-24.

Notas sobre triatomideos do Rio Grande do Sul e descrição de uma nova especie *

por

Arthur Neiva, Cesar Pinto e Herman Lent

(Com 2 figuras no texto)

Depois da verificação feita, este ano, por Talice, medico uruguaio, da presença do primeiro caso de doença de Chagas no Estado do Rio Grande do Sul, o estudo dos triatomideos riograndenses aumentou de interesse, já que se tratava de um doente brasileiro que vivia no distrito de Santana, a 25 Km. da cidade uruguaia de Rivera. O autor refere-se a presença de triatomas na localidade, designando-os, apenas, pelos nomes vulgares, informando, porém, da sua frequencia nos domicilios.

A primeira verificação da presença de triatomideos no Estado do Rio Grande do Sul foi efetuada por Neiva, em 1913, quando registrou o *Triatoma infestans* ali frequente.

Tambem neste mesmo ano, Neiva, referiu a existencia de *Eutriatoma rubrovaria* que, mais tarde, Alcides da Nova Gomes encontrou em domicilios da cidade de Pelotas.

Em 1920, Gastão de Oliveira publicou a melhor contribuição sobre o conhecimento dos triatomideos riograndenses, assinalando o *Panstrongylus megistus* em duas localidades, Canôas e Encruzilhada, cujos exemplares não se mostravam infestados pelo *Schizotrypanum cruzi*, a exemplo de *E. rubrovaria*, que tambem encontrou. Tal fáto está em contraste com o que ocorre com o *T. infestans* que, além de frequente, se mostra sempre infestado. Cesar Pinto tambem encontrou o *P. megistus* em Porto Alegre (Belém Novo) sem estar infestado.

Em 1923, Neiva e Pinto descrevem o *Eutriatoma gomesi* de um exemplar enviado pelo Dr. João Pedro de Albuquerque, sem indicação de localidade e que é especie afim da que damos a seguir como nova e que sabemos proceder de Porto Alegre e fazia parte da coleção do Museu Paulista e sobre cujos habitos, no entanto, tudo desconhecemos.

---

* Recebido para publicação a 20 de Novembro de 1939 e dado á publicidade em Dezembro de 1939.

Eutriatoma oliveirai n. sp.

Comprimento — Femea 26 mm.

Largura — Femea 10 mm. (ao nivel do conexivo); 5 mm. (ao nivel do pronoto).

Corpo de colorido geral preto, cabeça e torax pretos, porém o pronoto possue duas manchas amareladas, côr tambem verificada nos hemelitros e nas manchas do conexivo.

Fig. 1

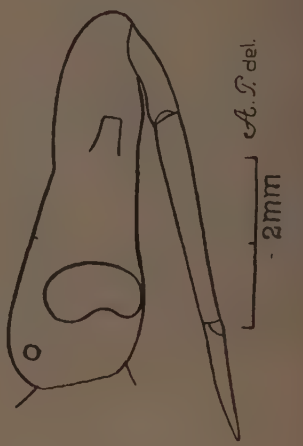


Fig. 2

Eutriatoma oliveirai n. sp. —
Fig. 1: Desenho total do holotipo femea.
Fig. 2: Cabeça de perfil.

Cabeça de colorido preto, fracamente pilosa, rugosa, longa, muito maior do que o pronoto, de comprimento igual ao do pronoto mais o do escutelo, a região anteocular sendo 3 vêses mais comprida do que a postocular; distancia interocular maior que o comprimento da região postocular e equivalente á largura dos dois olhos; tylus bem visivel, ultrapassado anteriormente pelas genas; tuberculos parafrontais pequenos. Olhos laterais salientes, claros e ocelos bem nitidos mais aproximados entre si do que os olhos. Tuberculos anteniferos implantados no meio da região anteocular, curtos, de colorido preto, com cerdas apicais externas maiores; 1.º articulo castanho escuro, quasi atingindo o apice da cabeça, revestido de cerdas; 2.º articulo com o mesmo diametro e do mesmo colorido, revestido de cerdas e com 4 vêses o comprimento do 1.º articulo; 3.º articulo mais delgado, esbranquiçado, revestido de cerdas curtas e outras finas e longas, com 2/3 do comprimento do 2.º articulo; 4.º articulo de aspecto e diametro iguais aos do 3.º e um pouco menor do que este articulo (fig. 1). Rostro reto, achatado dorso-ventralmente, de colorido castanho escuro uniforme e revestido de cerdas que são mais abundantes e longas no 3.º articulo e no apice do 2.º; o 1.º articulo é mais largo e atinge o nivel da implantação do 1.º articulo antenal, é recoberto pelo labro em parte; 2.º articulo ultrapassa os olhos e possue 2 1/2 vêses o comprimento do 1.º articulo; 3.º articulo levemente maior do que o 1.º e afilado na ponta, que repousa sobre o sulco proesternal (fig. 2).

Pescoço preto com uma mancha amarelada de cada lado (fig. 1).

Pronoto preto, fracamente piloso, rugoso, de forma trapezoidal, com lobulo anterior bem separado do posterior, sómente com duas manchas amareladas alongadas situadas sobre os angulos posteriores do pronoto. Lobulo anterior com 2/3 do comprimento do lobulo posterior, possuindo duas calosidades centrais, uma de cada lado da linha mediana; na linha mediana vê-se a região glabra em forma de trevo de 4 folhas; lateralmente, é visivel um outro tuberculo pouco acentuado, além de varias outras saliencias esparsas; as carenas longitudinais são praticamente inexistentes; colarinho bem separado e com os angulos anteriores dirigidos para fóra e de apice arredondado. Lobulo posterior enrugado, negro, com as manchas amarelas sobre os angulos posteriores, que são pouco pronunciados (fig. 1).

Escutelo triangular, preto, com o apice contraído e completamente voltado para cima e de ponta romba; de cada lado do escutelo vê-se uma saliencia elevada e enrugada, as duas delimitando uma depressão grande alongada e central; o escutelo é revestido de fraca pilosidade (fig. 1).

Pleuras e esterno sem detalhes importantes, com pilosidade muito fraca.

Hemelitros claros, amarelados, uniformemente corados o corio e a membrana, sem manchas, as nervuras se destacando graças ao colorido castanho que possuem. São curtos, de modo que não recobrem lateral e terminalmente grande parte do abdome (fig. 1).

Pernas castanho escuras com tarsos mais claros. Femures com 1 par de espinhos pequenos na porção apical e inferior dos 1.º e 2.º pares, substituido por uma pequena elevação no mesmo local no 3.º par. Tibias pilosas e fossetas esponjosas não aparentes.

Abdome preto, muito pouco piloso, com estigmas arredondados, amarelos e marginais, situados no meio de cada segmento. Conexivo muito largo,

de colorido geral preto e com 6 grandes manchas amareladas, uma em cada segmento visivel; estas manchas são separadas uma da outra por estreita faixa que cobre a sutura dos segmentos abdominais (fig. 1).

A descrição é baseada num só exemplar femea proveniente de Porto Alegre, Estado do Rio Grande do Sul — Brasil. Holotipo femea na coleção do Instituto Oswaldo Cruz, sob o numero 1365.

A especie é dedicada ao eminente colega Dr. Gastão de Oliveira que, em 1920, fez os primeiros estudos epidemiologicos sobre a doença de Carlos Chagas no Estado do Rio Grande do Sul.

Eutriatoma oliveirai n. sp. é especie muito proxima de *Eutriatoma gomesi* (Neiva & Pinto, 1923), com o exemplar tipo da qual foi estritamente comparada. E' uma especie muito mais melanica do que *gomesi*, as duas possuindo, entretanto, colorido geral preto e manchas amareladas. A cabeça em *oliveirai* é mais longa do que em *gomesi*, de modo que seu comprimento é igual ao do pronoto mais o do escutelo, emquanto que *gomesi* possue a cabeça sómente levemente maior do que o pronoto. A forma do pronoto e a do escutelo difere nas duas especies. Ainda, o pronoto é todo preto em *gomesi* e possue duas manchas amarelas nos angulos posteriores em *oliveirai*. Os hemelitros são manchados e escuros em *gomesi* e uniformemente amarelos em *oliveirai*. As manchas do conexivo são, tambem, diferentes nestas duas especies.

BIBLIOGRAFIA REFERIDA

Neiva, A.

1913. Informações sobre a biologia da vinchuca, *Triatoma infestans* Klug, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, **5** (1) : 24-31.

1913. Algunos datos sobre hemipteros hematofagos de la America del Sur, con la descripción de una nueva especie. Anal. Mus. Nac. Hist. Nat., B. Aires, **24** : 195-198.

Neiva, A. & Pinto, C.

1923. Representantes dos generos *Triatoma* Lap. e *Rhodnius* Stal encontrados no Brasil Central e Sul; observações biologicas e descripção de uma nova especie. Brasil Medico, **37** (7) : 84-86.

Oliveira, G.

1920. Isolamento do *Trypanosoma cruzi* e outras noções concernentes á molestia de Chagas no Rio Grande do Sul (Nota prévia). Brasil Medico, **34** (9) : 142-143.

Talice, R.-V.

1939. Sobre el primer caso de Enfermedad de Chagas comprobado en el Estado de Rio Grande del Sur (Brasil). Arch. Urug. Med., Cirurg. y Espec., **14** (6) : 558-566.

Ação da nicotina sobre os movimentos respiratorios do macaco (M. rhesus). Ausencia da grande apnéa *

por

H. Moussatché e M. Vianna Dias

Do Laboratorio de Fisiologia do Instituto Oswaldo Cruz

(Com 3 figuras no texto)

A ação da nicotina sobre os movimentos respiratorios é estudada ha muitos anos. Rosenthal (1) em 1863 já tinha assinalado ser essa ação a principio excitante e posteriormente inhibidora do ritmo respiratorio, sendo que nos mamiferos predomina a ação excitante. Em rãs, Anrep (2) observara tambem aceleração da respiração seguida de diminuição. Varios outros autores que se interessaram pelo assunto chegaram a resultados mais ou menos semelhantes.

Coube, porém, a M. Ozorio de Almeida (3), em 1919, observar que a injeção endo-venosa de determinada dose de nicotina, em cães anestesiados, produz uma modificação caracteristica do ritmo respiratorio. Imediatamente após a injeção de uma dose de nicotina variavel entre 0mgr,31 e 1mgr,16 notavam-se as seguintes modificações: 1) uma pequena parada dos movimentos respiratorios (pequena apnéa); 2) volta dos movimentos respiratorios com frequencia maior que a normal; 3) grande pausa respiratoria que constitue a apnéa nicotinica propriamente dita; 4) volta do ritmo respiratorio que retoma depois de algum tempo o aspecto normal.

Este fenomeno produz-se com grande regularidade, quando se observam as condições experimentais necessarias e foi confirmado por varios autores (4, 5), merecendo o nome de *efeito M. Ozorio de Almeida*,

* Recebido para publicação a 4 de Novembro de 1939 e dado á publicidade em Dezembro de 1939.

a ele dado por Hazard, Cheymol e Quinquaud (5). Na fig. 1 reproduzimos um traçado tirado recentemente no laboratorio.

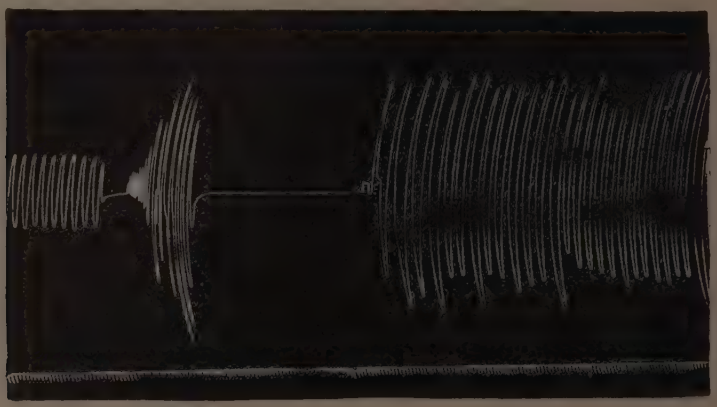


Fig. 1 — Cão; apnéa de 50 segundos produzida pela injeção na safena de sol. de nicotina na dose de 1mgr. para 3 quilos. Tempo em segundos.

Em trabalho recente, Hazard, Cheymol e Quinquaud (6) notaram que no gato a ação da nicotina não se apresenta com o mesmo aspecto. Doses de nicotina que variaram entre 0,50 e 2 mgr. provocaram uma parada dos movimentos respiratorios (pequena apnéa) seguida de uma aceleração, porém nunca uma grande apnéa.

Deante desse modo diferente de reação das diversas especies de animais, procuramos verificar como se comportam os *M. rhesus*, aproveitando para este fim animais já utilisados em outras experiencias.

Método: o macaco era préviamente anestesiado com uma injeção de intraperitoneal de cloridrato de morfina na dose de 0,5 a 1 ctg. e hidrato de cloral de 0,10 a 0,15 ctg. por kilo de peso.

A inscrição dos movimentos respiratorios era feita pela introdução de uma canula traqueal ligada a um tambor inscritor, havendo intermediariamente um recipiente de 10 litros que permitia uma redução suficiente da amplitude dos movimentos respiratorios.

Resultados: Iniciámos as experiencias injetando doses equivalentes ás do cão, isto é, como termo médio 1 mgr. para cada 3 kilos de animal. Poucos segundos depois o efeito já era nitido. Os animais reagiam ou acelerando imediatamente os movimentos respiratorios ou por uma pausa

respiratoria (pequena apnéa), que durava poucos segundos (4 a 7 segundos), seguida de uma aceleração. O numero de movimentos na unidade de tempo passava ao duplo, indo de 30 a 35 movimentos por minuto a 66-72. O aumento da amplitude era tambem extremamente grande, como pode ser observado nos traçados. Nos traçados apresentados (figs. 2 e 3)

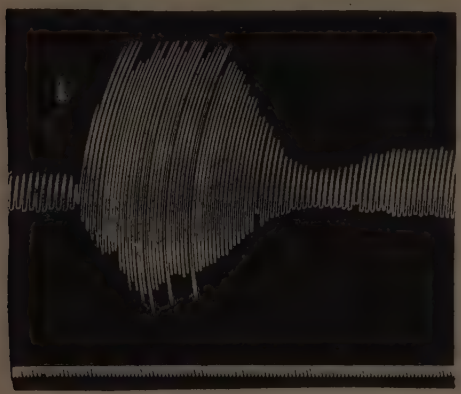


Fig. 2 — M. rhesus, 2kl 500; injeção na jugular de 2cc. de sol. de nicotina á 1 por 100. A seta indica o inicio da injeção. Tempo em segundos.

vemos as duas maneiras de reagir que assinalamos. A grande apnéa, porém, nunca foi obtida. Procurando averiguar se se tratava de uma questão de dose, injetamos quantidades muito maiores que as anteriores,

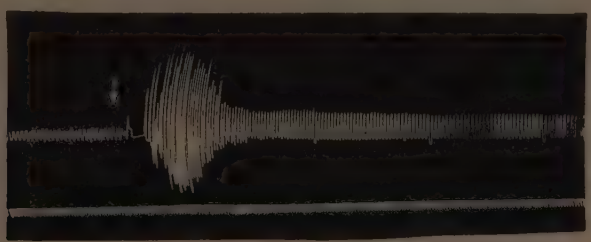


Fig. 3 — M. rhesus, 3 quilos; injeção na jugular de 10cc. de sol. de nicotina á 1 por 1.000 (diluidos em 15cc.). A seta indica o inicio da injeção. Tempo em segundos.

chegando até ás doses de 8-10 mgr. por kilo, isto é, doses muito proximas das mortais, mas sem resultado.

CONCLUSÕES

1) Nos macacos (*M. rhesus*) a nicotina tem ação sobre os movimentos respiratorios predominantemente excitante.

2) Em alguns casos obtem-se somente a pequena apnéa.
3) Nunca foi obtida a grande apnéa.
4) A ação da nicotina em macacos assemelha-se á que se observa nos gatos.

BIBLIOGRAFIA

(1) Rosenthal, J.

1913. Cit. por H. Wolff. Untersuchungen am Atemzentrum über Synergismus und Antagonismus von Giften. Arch. f. Exp. Pharmak. Bd., **74** : 306.

(2) 'Anrep

1913. Cit. por H. Wolff. Idem.

(3) M. Ozorio de Almeida

1919-20. L'apnée nicotinique, J. Physiol. et Pathol. Générale, **18** : 744.

(4) Heymans, J. F. & Heymans, C.

1920. Recherches physiologiques et pharmacologiques sur la tête isolée du chien. Arch. Int. Pharmacod., **32** : 9.

(5) Hazard, R., Cheymol, J. & Quinquaud, A.

1939. Sur l'apnée nicotinique. Effet Miguel Ozorio de Almeida. — Liv. Homenagem Profs. A. e M. Ozorio de Almeida, Rio de Janeiro : 308.

(6) Hazard, R., Cheymol, J. & Quinquaud, A.

1939. Nicotine et rythme respiratoire chez le chat. Pas d'apnée nicotinique, apnée unique suivie de polypnée. C. R. Soc. Biol., **130** : 454.

Action de la nicotine sur les mouvements respiratoires chez le singe (M. rhesus). Absence de la grand apnée nicotinique

par

H. Moussatché et M Vianna Dias

(Laboratoire de Physiologie, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro)

(Avec 3 figs.)

Depuis de nombreuses années on étudie l'action de la nicotine sur les mouvements respiratoires. Rosenthal (1) avait déjà signalé en 1863 que cette substance produit au début une excitation et ensuite une inhibition des mouvements respiratoires; chez les Mammifères il a constaté une prédominance de l'action excitante. Chez les Grenouilles, Anrep (2) a aussi signalé une accéleration de la respiration suivie d'un ralentissement. Plusieurs auteurs qui ont étudié la question ont abouti à de resultats semblables.

M. Ozorio de Almeida (3) a découvert le premier, en 1919, une modification caractéristique du rythme respiratoire produite par l'injection intra-veineuse d'une dose determinée de nicotine chez les Chiens anesthésiés. Tout de suite après l'injection d'une dose de nicotine qui peut varier de 0mgr,34 à 1mgr,16, on observe les alterations suivantes: 1) un petit arrêt des mouvements respiratoires (petit apnée); 2) retour des mouvements respiratoires à une frequence plus grande que la normale; 3) grande pause respiratoire constituant *l'apnée nicotinique proprement dite*; 4) retour progressive au rythme respiratoire normal.

L'apnée nicotinique est un phénomène qui se montre d'une manière très constante, quand on suit exactement la technique nécessaire. Ce phénomène fut retrouvé par plusieurs auteurs (4, 5) et on l'appelle quelque près *effet M. Ozorio de Almeida* (Hazard, Cheymol et Quinquaud (5). Dans la fig. 1 nous reproduisont un des tracés récemment obtenus au laboratoire.

Dans de recherches récentes Hazard, Cheymol et Quinquaud (6) ont observé que chez le Chat, l'action de la nicotine ne se présente pas de la même manière. Des doses de nicotine comprises entre 0,50 et

2,0 mgr. ont produit un arrêt des mouvements respiratoires (la petite apnée) suivi d'une accélération, mais jamais la grande apnée.

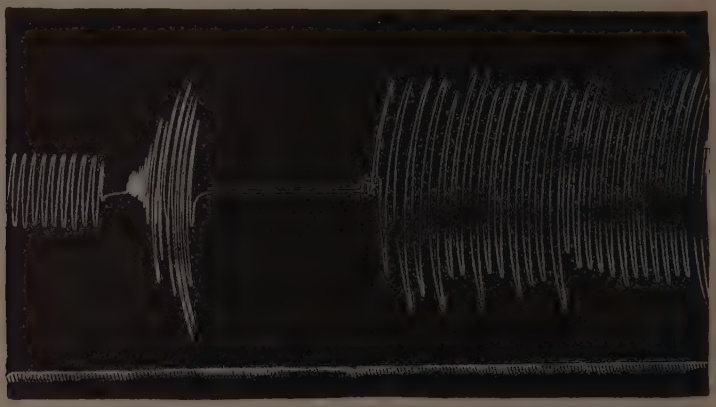


Fig. 1 — Apnée de 50 secondes produite chez le Chien par l'injection intraveineuse de nicotine à la dose de 1mgr. pour 3 klgrs. d'animal. Temps en secondes.

Étant donnée la réaction differente suivant l'espèce animale, nous nous sommes posé la question de savoir comment se comportent les Singes (M. Rhesus). Nous avons utilisé dans ce but des animaux qui avaient déjà servi à d'autres expériences.

Méthode — Le Singe était préalablement anesthésié par des injections intra-péritonéales de chlorhydrate de morphine à la dose de 0,5 à 1 ctgr. et d'hydrate de chloral (0,10 à 0,15 ctgr. par kilo d'animal.

L'enregistrement des mouvements respiratoires était obtenu au moyen d'une canule trachéale réliée à un grand flacon de 10 litres, celui-ci étant mis à son tour en communication avec un tambour de Marey. On obtenait de la sorte une réduction suffisante de l'amplitude.

Résultats — Dans nos premiers essais nous avons employé des doses équivalentes à celles qu'on emploie pour le cas du Chien, c'est-à-dire, des doses qui oscillent autour d'un tiers de milligramme par kilo d'animal. Deux ou trois secondes après l'injection on observe déjà des reactions: parfois une accélération des mouvements respiratoires, d'autres fois un arrêt de quelques secondes (4 à 7), (petite apnée), suivi d'une accélération. La fréquence respiratoire peut doubler et passer de 30 à 35 par minute à 66-72. L'augmentation de l'amplitude peut aussi se montrer d'une ma-

nière très nette comme on le voit dans les tracés. Ceux-ci (fig. 2 et 3) nous montrent les deux manières differentes de réaction que nous venons

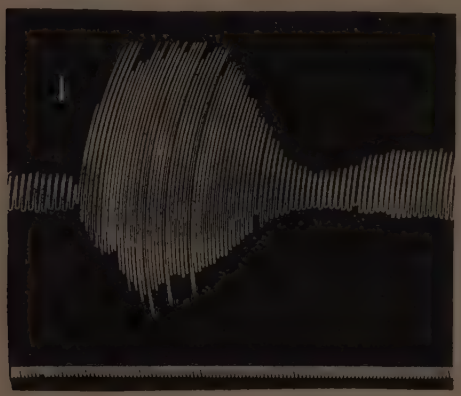


Fig. 2 — M. rhesus, 2kl 500. Action sur la respiration de l'injection intraveineuse de 2 cc. d'une solution de nicotine à 1 p. 100. La fléche montre le moment de l'injection. Temps en secondes.

de décrire. Nous n'avons jamais constaté la grande apnée nicotinique chez le Singe. Ce résultat negatif n'est pas du à une insuffisance des quantités injectées. En effet, dans quelques expériences nous avons em-

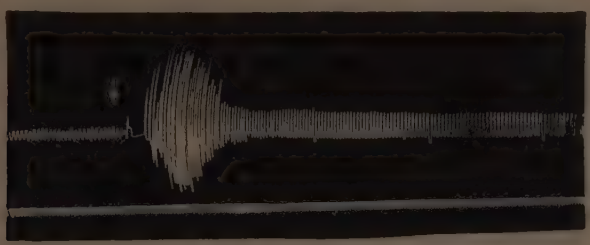


Fig. 3 — M. rhesus, 3kl00. Effet de l'injection intraveineuse de 15cc. de la solution de nicotine à 0,67 p. 1000. La fléche montre le moment de l'injection. Temps en secondes.

ployé des doses beaucoup plus fortes, nous sommes arrivés à de doses de 8-10 mgr. par kilo, c'est-à-dire, des doses très proches des doses sûrment mortelles, sans avoir obtenu la grande apnée.

CONCLUSIONS

1) Chez le Singe (M. Rhesus) l'action de la nicotine sur les mouvements respiratoires se montre surtout comme une action d'excitation.

2) Dans quelques cas on peut obtenir la petite apnée initiale.
3) Nous n'avons jamais obtenu la grande apnée nicotinique chez le Singe.
4) L'action de la nicotine sur la respiration du Singe est semblable à celle que l'on constate chez le Chat.

Algumas investigações sobre Schizotrypanum de Quirópteros *

por

Emmanuel Dias e Cecilio Romaña

Ulteriormente aos trabalhos publicados sobre o assunto pelos autôres (Dias 1933*a*, 1933*b*, 1934, 1936, 1937, Romaña 1936), novas investigações foram levadas a cabo pelos mesmos em diversos paises americanos, das quais resultaram não só o encontro de novas especies de morcegos infectadas em condições naturais, como novos dados sobre distribuição geografica da infecção e sobre o comportamento experimental do *Schizotrypanum* destes mamiferos. O presente trabalho reune o resultado dessas investigações, correspondendo a Romaña todas as pesquisas realisadas na Argentina e a Dias as empreendidas no Brasil, nos Estados Unidos e no Mexico. Neste ultimo país as pesquisas foram feitas em colaboração com o Dr. Alfonso Reyes (Filho) e Senhora, cujo prestimoso auxilio muito agradecemos.

ESPECIES EXAMINADAS

Nos quadros 1 e 2 acham-se indicados os nomes das especies de morcegos, o local, o numero de individuos examinados e o numero de exemplares com tripanosomas no sangue. A exclusão da especie *Antrozous pallidus pacificus* Merriam, cuja infecção na California fôra préviamente comunicada (Dias 1937), os demais resultados são inéditos. O encontro de tripanosomas nesta especie não só alargou de muito a distribuição geografica conhecida da infecção, pela primeira vez assinalada na America do Norte, como constitue a primeira referencia ao parasitismo natural de morcegos da sub-familia Nyctophilinae (Vespertilionidae).

As especies argentinas examinadas foram classificadas ou reclassificadas pelo Dr. Angel Cabrera, do Museu de La Plata, que retificou algumas das determinações que figuram no trabalho de Romaña (1936). O *Myotis nigricans nigricans*, que já havia sido encontrado com tripanosomas em Lassance (Dias 1933*b*, 1934), o foi tambem em Vila Ana; porém, foi inicialmente determinado [1] como *Myotis levis*, como tal figurando tanto no mencionado trabalho de Romaña (1936) como na revisão

* Recebido para publicação a 21 de Novembro de 1939 e dado á publicidade em Dezembro de 1939.

[1] S. Mazza.

de Dias (1936). De acordo com a redeterminação de Cabrera, devem ser ainda retificadas outras especies, cujo sangue foi examinado com resultado negativo e que estão referidas em Romaña (1936): *Saturnia lilium* corresponde na realidade á especie hematófaga *Desmodus rotundus rotundus*, e *Nyctinomus macrotis* corresponde a *Eumops bonariensis beckeri*. Esta ultima foi achada infectada em Santa Felicia e em Tartagal, ulteriormente, constituindo o fato primeira verificação nesta especie de Molossideo.

No Brasil, os dados novos dizem sómente respeito á distribuição geografica, estabelecendo-se a presença da infecção em *Phyllostomus hastatus* dos Estados de Mato Grosso (Campo Grande) e do Rio de Janeiro (Nucleo Colonial São Bento, Caxias).

As especies de morcegos até agora encontradas infectadas por *Schizotrypanum* na Argentina e no Brasil são em numero de seis, distribuidas por 4 familias de Microquirópteros: *Phyllostomus hastatus* (Pallas), e *Carollia perspicillata* (L.), pertencentes á familia Phyllostomidae; *Nyctinomus macrotis* Gray e *Eumops bonariensis beckeri* Sanborn, da familia Molossidae; *Myotis nigricans* (Wied), Vespertilionideo da sub-familia vespertilioninae; e *Dirias albiventer*, unica especie infectada da familia Noctilionidae. No quadro 3 acha-se indicada a distribuição geografica das especies infectadas nos dois paises, tal como é atualmente conhecida, e referencia aos autores que efetuaram os achados.

Quadro 1

Relação dos morcegos examinados no Brasil, nos Estados Unidos e no Mexico (E. D.)

ESPECIE	LOCALIDADE	Examinados	Infectados
	BRASIL		
Myotis nigricans	Salobra, Mato Grosso	2	
Phyllostomus hastatus	Tres Lagoas, M. Grosso	1	
« «	Campo Grande, «	2	1
« «	Distrito Federal	3	
« «	Caxias, E. do Rio	12	1
Glossophaga soricina	Campo Grande, M. Grosso	8	
« «	Aquidauana «	1	
« «	Miranda «	5	
Molossus obscurus	Distrito Federal	10	
« *rufus*	Caxias, E. do Rio	9	
	ESTADOS UNIDOS		
Antrozous pallidus pacificus	Pinole, Contra Costa County, California	8	2
	MEXICO		
Myotis velifer velifer	San Cristobal Ecatepec Estado de Mexico	25	
Tadarida mexicana	Santa Cruz de Vista Alegre Estado Morelos	21	

Quadro 2

Relação dos morcegos examinados na Argentina (C. R.)

ESPECIE	LOCALIDADE	Examinados	Infectados
Myotis nigricans nigricans	Villa Guillermina	2	
« « «	Florencia	6	
« « «	Villa Ana	2	1
« « «	Santa Felicia	10	
Desmodus rotundus rotundus	El Rabón	68	
« « «	Rio Guaycurú	6	
Molossus correntium	Villa Guillermina	8	
Eumops bonariensis beckeri	La Gallareta	12	
« « «	Santa Felicia	46	5
« « «	Cote Lai	6	
« « «	Tartagal	26	2
« « «	Resistencia	14	
« « «	Florencia	1	
« « «	Piracuacito	6	
Lasiurus borealis blossevillii	Villa Ana	1	
« « «	C. Basail	1	
Cynomops cerastes	Resistencia	12	
« «	Piracuacito	2	
Noctilio leporinus	Piracua	10	

Quadro 3

Relação das especies de morcegos encontrados com infecção natural por *Schizotrypanum*, no Brasil e na Argentina

ESPECIE	PAÍS	CIDADE E ESTADO	AUTOR [2]
Phyllostomus hastatus	Brasil	Estrela do Sul, Minas	Rudolph 1911 (in Carini 1931)
« «	«	Jatahi, Goiaz	Carini 1931
« «	«	Lassance, Minas	Dias 1933 *a*
« «	«	Benjamin Constant, Minas	Dias 1936
« «	«	Teixeira Soares, Minas	Dias 1936
« «	«	Campo Grande, Mato Grosso	Dias 1939
« «	«	Caxias, E. do Rio	Dias 1939
Carollia perspicillata	«	Benjamin Constant, Minas	Dias 1936
Nyctinomus macrotis	Argentina	Resistencia, Chaco	Mazza 1935
« «	«	Ingenio Ledesma, Jujuy	Mazza 1935
« «	Brasil	Malhada, Bahia	Dias 1936
Eumops bonariensis beckeri	Argentina	Santa Felicia, Santa Fé	Romaña 1939
« « «	«	Tartagal, Santa Fé	Romaña 1939
Myotis nigricans	Brasil	Lassance, Minas	Dias 1933 *b*
« «	Argentina	Villa Ana, Santa Fé	Romaña 1936
Dirias albiventer	Brasil	Casa Nova, Bahia	Dias 1936

[2] Romaña (1939) e Dias (1939) referem-se aos achados respectivos, publicados por primeira vez no presente trabalho.

A determinação corréta dos morcegos referidos no presente trabalho é devida ao Dr. G. S. Miller, Jr., do U .S. National Museum, que classificou as especies norte-americanas; ao Dr. Oliverio de Oliveira Pinto, do Museu Paulista, e Miranda Ribeiro, do Museu Nacional, que determinaram as especies brasileiras, e ao Dr. Angel Cabrera, do Museu de La Plata, que identificou os morcegos argentinos. A estes cientistas, por sua indispensavel colaboração, nosso sincero reconhecimento. Agradecemos tambem, mais uma vez, ao Dr. H. Kirby Jr., da Universidade da California em Berkeley, o material de *Antrozous* que nos proporcionou.

EXAME HISTOLOGICO DE MORCEGOS INFECTADOS:

Neste particular caracterisam-se as presentes investigações pelos resultados uniformemente negativos, no que diz respeito ao encontro de formas de multiplicação do *Schizotrypanum*. Além das fórmas leishmanianas do *Phyllostomus hastatus* já descritas (Dias 1933*a*, 1936), em nenhuma das outras especies infectadas os elementos de multiplicação puderam ser observados, não obstante a busca haver sido, em alguns casos, muito prolongada. E' verdade que na quasi totalidade das vezes tratava-se de infecções sanguineas extremamente fracas, em que o encontro de leishmanias nos tecidos depende muito do acaso. O exame histologico foi infrutifero nos tecidos dos morcegos infectados: *Antrozous pallidus pacificus*, *Eumops bonariensis beckeri*, *Myotis nigricans*.

ALIMENTAÇÃO DE BARBEIROS PUROS EM MORCEGOS INFECTADOS:

Myotis nigricans nigricans — O exemplar infectado de Vila Ana foi sugado em 20-7-935 por 6 formas jovens de *Triatoma infestans*, que não se mostraram parasitadas quando dissecadas 43 dias mais tarde (v. Romaña 1936).

Antrozous pallidus pacificus — Um especimen da California, com raros trypanosomas no sangue, foi sugado por varios barbeiros normais em 31-5-937. 3 *T. infestans*, dissecados respectivamente 46, 66 e 99 dias depois, não mostraram flagelados no intestino.

Eumops bonariensis beckeri — Sobre um exemplar infectado, capturado em Tartagal (Santa Fé) em Março de 1936, foram alimentadas 6 larvas de *T. infestans*. Destas, 3 estavam infectadas, quando examinadas mêses mais tarde; 2 estavam negativas, e 1 morreu muito tempo depois, sem haver sido examinada. A alimentação se deu em 17-3-36. As 2 primeiras larvas examinadas foram dissecadas no dia 9-6-36, negativas; das restantes, que foram alimentadas em animal normal em 16-10-936

e 6-11-36, duas foram sacrificadas em 18-1-37 e uma em 17-10-37, mostrando critidias e tripanosomas metaciclicos no conteúdo intestinal. O maior prazo em que foi verificada a duração do parasitismo do *T. infestans* nesta prova, foi de 19 mêses.

INOCULAÇÃO DE ANIMAL COM BARBEIROS INFECTADOS SOBRE MORCEGO:

Um camondongo foi inoculado em 1-2-37 com dejeções infectadas de dois *T. infestans* que sugaram o *E. bonariensis beckeri*, por via subcutanea. Examinado por primeira vez 15 dias depois, o camondongo apresentava tripanosomas no sangue. Foi sacrificado em 7-3-37, ainda infectado. Antes de ser sacrificado, o camondongo foi sugado por 6 larvas de *T. infestans* nascidas no laboratorio:

7-3-37: Alimentação das larvas no camondongo.
16-10-37: Alimentação em animal normal.
17-10-37: Dissecada 1, infectada.
8-12-37: Uma unica ninfa sobrevivente, com dejeções infectadas.
8-2-38: Esta foi dissecada, não mais apresentando flagelados no conteúdo intestinal.

Das 6 larvas foi portanto verificado o parasitismo em 2, morrendo as demais sem exame. O fato do desaparecimento do parasitismo em barbeiros infectados por flagelados de morcegos, agora verificado por Romaña em *T. infestans* parasitados por amostra originaria de *E. bonariensis beckeri*, foi tambem observado por Dias (1936), em *P. megistus* infectados com *Schizotrypanum* de *Phyllostomus hastatus*.

INOCULAÇÃO DE CULTURA EM COELHO:

Em trabalho anterior (Dias 1936, p. 55) assinalámos, a proposito da observação de animais inoculados com cultura de *Schizotrypanum* de *P. hastatus*, que diversos exames microscopicos de tecidos do ponto de inoculação, haviam sido negativos, como uniformemente negativos foram os exames a fresco do sangue dos mesmos animais. Revendo ulteriormente o material histologico destas observações, pudemos verificar, nos tecidos do ponto de inoculação de um coelho, a presença de varias celulas (histiocitos) encerrando tipicos corpusculos leishmaniformes. O animal em questão fôra inoculado por via subcutanea em 21-2-34 e sacrificado 5 dias depois. No sangue e nos orgãos não foram achados parasitos.

OBSERVAÇÕES SOBRE A CONVIVENCIA DE INSETOS SUGADORES COM MORCEGOS:

Devido á circunstancia de que até hoje não está esclarecido o problema da transmissão dos hemoflagelados de quirópteros, apresentam particular interesse as observações concernentes á associação entre artrópodes hematófagos e estes mamiferos.

Examinando um lóte de 9 morcegos (*Eumops bonariensis beckeri*), em Janeiro de 1936, em Santa Felicia (Santa Fé), encontrámos (C. R.) 3 com raros tripanosomas em gota espessa. Estes *Eumops* habitavam uma casa havia pouco abandonada pelos moradores, escondendo-se sob as chapas de zinco do této, onde foram capturados tambem 8 exemplares de percevejos (Cimicideos) de especie não identificada. O conteúdo intestinal dos insétos foi examinado em estado fresco, com resultado negativo. Estes percevejos viviam em estreito contacto com os morcegos, de cujo sangue deviam se alimentar. Confirmam os habitantes do logar que não é raro encontrarem-se percevejos em forros ou tétos de casas onde vivem morcegos. A' custa destes, sem duvida, é que vivem os percevejos que por vezes se encontram em grande numero no fôrro de casas abandonadas desde muito tempo pelos habitantes.

Em uma outra casa de Santa Felicia, proxima da precedente, capturámos 1 *Eumops* não infectado e, perto dele, um percevejo aparentemente da mesma especie que os anteriores, que tambem não mostrou flagelados ao exame a fresco.

Nesta mesma vivenda foi apanhado um *Myotis nigricans nigricans*, junto ao qual estava um *Triatoma sordida* adulto, no qual não foram encontrados flagelados.

Outro fato tambem observado sobre a convivencia de morcegos e reduvideos, foi o encontro, em um ninho de *Eumops* em um tronco de arvoreôco, de varias larvas de *Triatoma infestans*, todas elas sem infecção (Resistencia, Chaco).

RESUMO

Os autores referem as especies de morcegos de diversos países americanos, em que foi pesquisada no sangue a presença de hemoflagelados. Tripanosomas com a morfologia das formas sanguicolas de *Schizotrypanum* foram encontrados, tendo sido colhidos dados novos sobre a distribuição geografica e a incidencia da infecção em diferentes especies de morcegos.

Sómente nos tecidos do *Phyllostomus hastatus* puderam ser encontradas as formas de multiplicação do flagelado.

Alimentando-se exemplares de *Triatoma infestans* em *Eumops bonariensis beckeri* infectado, foi obtido desenvolvimento intestinal do parasito. Por inoculação das *vinchucas* assim infectadas em camondongo, conseguiu-se facilmente transmissão da infecção a este animal.

Inoculando-se cultura do *Schizotrypanum* de *Phyllostomus hastatus* em coelho, por via subcutanea, verificaram-se no ponto de inoculação, 5 dias depois, celulas contendo tipicas formas de leishmania.

São assinalados fatos observados sobre a associação de morcegos com Hemipteros sugadores (Reduvideos e Cimicideos), os quais, pela circunstancia de se poderem infectar pelo flagelado, são os possiveis transmissores da infecção a estes mamiferos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Carini, A.

1931. Sobre um tripanosoma do sangue de um morcego do Brasil. VII Reunión Sociedad Argentina de Patologia Regional del Norte : 918.

Dias, E.

1933 *a*. Sobre um *Schizotrypanum* de um morcego do Brasil. Mem. Instituto Oswaldo Cruz, **27** : 139.

1933 *b*. Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. Tése de Doutoramento, Rio de Janeiro.

1934. Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. Mem. Instituto Oswaldo Cruz, **28** (1) : 1-111.

1936. Revisão geral dos Hemoflagellados de Chirópteros. IX Reunión Soc. Argentina Pat. Reg. Norte, **1** : 10-88.

1937. Trypanosomes in Bat and Marmot. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., **31** : 260.

Mazza, S.

1935. Hallazgo de tripañosomas en murcielagos del Chaco y Ledesma, Jujuy. Publicação n.º 22, M. E. P. R. A., Buenos Aires, 3-11.

Romana, C.

1936. Hallazgo de tripanosomas de murcielago en Villa Ana (Santa Fé). IX Reunión, Soc. Arg. Pat. Reg. Norte, **1** : 232-234.

Dados experimentais sobre a infestação do *Eutriatoma nigromaculata* (Stal, 1872) pelo *Schizotrypanum cruzi* (Chagas, 1909), e sua redescrição *

pelos

Dr. Herman Lent
Instituto Oswaldo Cruz
Rio de Janeiro, Brasil

e

Dr. Félix Pifano C.
Médico Jefe de la Estación de Malariologia de
San Felipe, Estado Yaracuy — Venezuela

(Com 2 figuras no texto)

A extensa lista de especies de triatomideos infestados pelo *Schizotrypanum cruzi* em natureza e experimentalmente podemos adicionar mais outra, encontrada por um de nós (Pifano), na Venezuela, a quem coube revelar os primeiros habitos e observações experimentais com aquele flagelado em relação a esta especie que, além disso, tem a particularidade de, após a data em que foi descrita, nunca mais ter sido observada, por muitos sendo considerada inexistente.

Trata-se de *Eutriatoma nigromaculata* (Stal, 1872) Lent & Pifano, 1939 inicialmente descrita, em 1859, por Stal, como *Conorhinus variegatus* nome que, preocupado pelo de Drury, 1773, foi mudado pelo proprio autor para *Conorhinus nigromaculatus*.

O exemplar tipo, uma femea, que provinha de La Guayra, nunca mais foi encontrado, segundo informa Hussey, em 1922, baseado na informação que Neiva dá, em 1914, ao dizer ter debalde procurado o exemplar tipo. Este o motivo pelo qual aqui reproduzimos sua descrição original:

« 11. *C. variegatus* Stal: Supra sordide griseo-flavescens, subtus cum « pedibus, antennis, apice capitis, maculis quatuor lobi thoracis postici, « maculis parvis corii majoribusque duabus indetermenatis membranae « nigro-fuscus; limbo abdominis fusco-testaceo, nigro-maculato. Femina « Long. 23, Lat. 5 Millim.
« Patria: La Guayra.

« Nigricans, glaber. Caput thorace nonnihil longius, supra inter tuber- « cula antennifera et ocellos sordide flavo-testaceum, lobis lateralibus « obtusis, medio subaequilongis; tuberculis antenniferis in medio partis

* Recebido para publicação a 23 de Novembro de 1939 e dado á publicidade em Dezembro de 1939.

« anteocularis insertis. Oculi modice prominentes. Rostrum gracile, parce « puberulum. Antennae articulo basali capitis apicem haud attingente, se- « cundo illo vix ter longiore. Thorax supra sordide griseo-flavescens, « lobo antico postico tertia fere parte breviore, disco tuberculis duobus « parvis instructo, tuberculis anticis conicis, maculis confluentibus nigris; « lobo postico ruguloso, maculis quatuor nigris, duabus mediis oblongo- « quadratis, lateralibus ovalibus, minoribus. Scutellum sordide griseo-fla- « vescens. Hemelytra sordide griseo-flavescentia, clavi macula apicali, corii « maculis octo minoribus oblongis vel subelongatis nec non maculis mem- « branae, quarum duae discoidales majores sunt, nigro-fuscis. Pectus dense « rugosum. Abdomen limbo latius fuscescente-testaceo, nigro-maculato. Fe- « mora anteriora subtus prope apicem spinulis tribus, postica ibidem spinula « unica armata. Tibiae fossula nulla spongiosa. »

Esta descrição foi traduzida, em 1930, por Del Ponte que informa, erradamente, ser La Guayra no Brasil quando, de fáto, esta cidade é o primeiro porto da Venezuela, situado nas costas do mar das Caraibas.

Baseando nosso estudo em 4 femeas e 2 machos podemos, agora, redescrever cuidadosamente a especie e publicar os primeiros desenhos que sobre ela foram feitos. Por eles é possivel verificar tratar-se de uma especie muito bem caracterisada e distinta.

Eutriatoma nigromaculata (Stal, 1872) Lent & Pifano, 1939

SINONIMIA:

Conorhinus variegatus Stal, 1859, p. 113 (*nec* Drury, 1773).
Conorhinus variegatus Stal, 1868, p. 124.
Conorhinus nigro-maculatus Stal, 1872, p. 111.
Conorhinus variegatus Walker, 1873, pp. 14, 16.
Conorhinus nigromaculatus Lethierry & Severin, 1896, p. 116.
Triatoma nigromaculata Neiva, 1914, p. 55.
Triatoma nigromaculata Del Ponte, 1921, pp. 161, 182.
Triatoma nigromaculata Hussey, 1922, p. 118.
Triatoma nigromaculata Pinto, 1925, pp. 74, 98.
Triatoma nigromaculata Del Ponte, 1925, pp. 26, 32.
Triatoma nigromaculata Pinto, 1926, p. 86.
Triatoma nigromaculata Del Ponte, 1930, pp. 887, 917.
? *Triatoma nigromaculata* Pinto, 1931, pp. 74-75.
? *Triatoma nigromaculata* Hase, 1932, pp. 596, 610.
Triatoma nigromaculata Iriarte, 1936, p. 198.
Triatoma nigro-maculata Neiva & Lent, 1936, pp. 173, 189.
Triatoma nigromaculata Iriarte, 1937, p. 189.
Triatoma nigromaculata? Ruge & Roeper, 1937, p. 388.
Triatoma nigro-maculata Pinto, 1938, p. 95.
Eutriatoma nigromaculata Lent & Pifano, 1939, pp. 685-686, 1 foto.

REDESCRIÇÃO:

Comprimento — Femeas 23 a 24 mm.; machos 21 a 22 mm.

Largura — Femeas 5,5 a 6 mm. (ao nivel do pronoto), 8 a 9 mm. (ao nivel do conexivo); machos 5 a 5,5 mm. (ao nivel do pronoto), 7 a 7,5 mm. (ao nivel do conexivo).

Corpo de colorido geral pardacento, com manchas pretas esparsas na face superior, e castanho escuro na face inferior, todo revestido de fraca pubescencia, mais intensa na face inferior do abdome.

Cabeça alongada, um pouco mais comprida do que o pronoto, delgada, revestida de curtos pêlos dourados. Região ante-ocular bem comprida, 3 1/2 vêses maior do que a post-ocular, com *tylus* e genas visiveis, estas de colorido negro e aquele com uma faixa longitudinal mediana pardacenta; daí para trás até a extremidade posterior da cabeça, na face superior, o colorido é pardacento.

Fig. 1 — *Eutriatoma nigromaculata* (Stal, 1872): Cabeça, de perfil, de um exemplar macho. R. Hon. *del.* — Original.

Tuberculos para-frontais tambem visiveis, pardos e com a base negra. Lateral e inferiormente, o colorido da cabeça tambem é negro. Olhos salientes, cada qual com a largura da distancia inter-ocular. Ocelos salientes, implantados em tuberculos confluentes na base. Tuberculos anteniferos implantados no meio da região ante-ocular. 1.º articulo antenal curto, não atingindo o apice da cabeça, mais dilatado no apice, de colorido preto e com raros pêlos esparsos; 2.º articulo longo, 4 vêses o comprimento do primeiro e diametro um pouco menor, revestido de pêlos em toda a extensão e do mesmo tipo; 3.º articulo mais delgado, castanho claro, quasi tão comprido quanto o segundo articulo, de aspecto anelado e revestido de cerdas curtas abundantes e raros pêlos mais longos e finos; 4.º articulo com o mesmo aspecto do 3.º e o dobro do tamanho do 1.º (no exemplar femea desenhado uma das antenas possue o 4.º articulo menor do que o da antena oposta, o que é uma anomalia). Rostro reto, achatado dorso-ventralmente, delgado e muito longo, de colorido preto e revestido de cerdas curtas; 1.º articulo forte, terminando cerca da porção mediana do 1.º articulo antenal,

quando o rostro está em posição de repouso; 2.º artículo muito longo e um pouco mais delgado, com 3 1/2 vêses o comprimento do primeiro, terminando ao nivel do pescoço; 3.º artículo mais fino, de apice pontudo, com 1 1/2 vês o comprimento do primeiro, repousando no sulco proesternal e atingindo a inserção do 1.º par de patas.

Pescoço de colorido preto sem manchas.

Tórax do mesmo colorido geral, pardacento, com regiões pilosas e outras glabras.

Pronoto forte, bem constituido, de colorido pardacento e manchas pretas com disposição caracteristica, revestido de curtos pêlos dourados. Lobulo anterior do pronoto grande, com 2/3 do comprimento do lobulo posterior e dele separado por um sulco transversal nitido; o colarinho é separado do lobulo anterior propriamente dito por um sulco profundo e está em plano inferior ao restante do pronoto, é pardacento e possue duas manchas pretas longitudinais, uma de cada lado, manchas estas sobre as quais se instalam pêlos. O lobulo anterior propriamente dito possue um pequeno tuberculo de cada lado da linha mediana, nesta linha existindo uma mancha preta glabra em forma de um trevo de 4 folhas, mancha esta que é sulcada longitudinalmente. Lateralmente, o lobulo anterior do pronoto propriamente dito possue duas manchas pretas glabras, uma de cada lado e em forma de um *H*, cujo ramo supero-interno se continúa com a mancha já assinalada no colarinho. Dos tuberculos do lobulo anterior do pronoto partem as carenas longitudinais que se prolongam até quasi o bordo posterior do lobulo posterior e são levemente divergentes. O lobulo posterior do pronoto possue 4 manchas pretas recobertas de pêlos dourados; 2 laterais ovoides e 2 centrais quadrangulares e com uma falha infero-interna, no meio das quais passam as carenas. Todo o lobulo posterior é pregueado irregularmente. Angulos anteriores do pronoto pardacentos, salientes, como si fossem as orelhas de um gato. Angulos posteriores do pronoto arredondados.

Escutelo triangular, pardo e preto, com um apice pardacento alongado, todo pregueado e escavado centralmente.

Inferiormente, todo o tórax é de colorido preto, revestido irregularmente de pêlos dourados. Propleuras pretas, pregueadas em varios sentidos, com 3 manchas pardas pequenas, uma acima e outra abaixo da implantação da coxa do 1.º par e outra no meio da propleura; proesterno pequeno, quasi todo ocupado pelo sulco proesternal, onde repousa o apice do rostro, e que é de colorido mais claro. Mesopleuras pretas, pregueadas, com uma grande mancha pardacenta ao lado da implantação da coxa do 2.º par, observando-se tambem pequena zona porosa que deve corresponder á abertura da glandula de odor; mesoesterno preto, liso, com zonas laterais glabras e zona mediana com pêlos dourados longos e uma faixa transversal saliente. Metapleuras pretas, pregueadas, com uma pequena mancha amarelada acima da implantação da coxa do 3.º par; metaesterno liso, preto, coberto de pêlos mais abundantes.

Patas de colorido preto, pardacentas sómente nas articulações, revestidas de pêlos curtos e escuros, as posteriores sensivelmente maiores do que as anteriores e medianas. Femures com um anel pardacento na extremidade apical e providos de uma série variavel de fortes espinhos pretos inscridos na face inferior do terço apical, espinhos estes que assim estão distribuidos: macho — 1.º par: 3 espinhos fortes dispostos em linha lateralmente e um outro mediano

mais fraco e que é o mais proximo do apice; femea — 1.º par: 2 espinhos fortes dispostos em linha lateralmente e um outro mediano mais fraco que é

Fig. 2 — *Eutriatoma nigromaculata* (Stal, 1872). Exemplar femea, total. R. Arlé *del.* — Original.

o mais proximo do apice; femea — 2.º par: como o 1.º par do macho uma das patas e como o 1.º par da femea na outra pata; macho — 2.º par: igual ao da femea; femea — 3.º par: com 2 espinhos fortes em linha lateralmente e, ás vêses, com um outro pequeno mediano. Estes espinhos são pequenos tuberculos inclinados na direção do apice do femur, de tamanho menor ou maior, e com uma cerda inserida na extremidade. Tibias pretas com um anel pardacento basal, sem fosseta esponjosa visivel. Tarsos pardacentos tri-articulados, e com duas unhas fortes.

Hemelitros recobrindo todo o abdome, pardacentos e manchados de pardo-escuro, possuindo pequenos pêlos dourados disseminados esparsamente sobre o corio, principalmente sobre as nervuras; no corio existem 8 pequenas manchas pardo-escuras sobre as celulas e uma sobre o clavo e na membrana existem manchas pardacentas em cada celula, duas delas sendo bem grandes e ocupando cada qual toda a extensão das 2.ª e 3.ª celulas.

Abdome com abundante pilosidade na face inferior que é pardacenta escura e com os segmentos bem divididos, cada qual com um orificio estigmatico saliente, arredondado e amarelado, situado no meio de cada segmento e bem proximo da inserção do conexivo. Conexivo largo, bem constituido, levemente arqueado, pardo-claro, com uma mancha preta em forma de bigorna no meio de cada segmento, a primeira e a ultima das quais é bem mais reduzida e perde sua forma tipica; inferiormente estas manchas são menores e estranguladas no centro. Em alguns exemplares, varias manchas em forma de bigorna são muito estranguladas medianamente provocando a separação em dois corpos distintos. O colorido do conexivo é pardo claro tambem inferiormente, colorido que avança um pouco sobre o abdome apresentando-se como uma faixa longitudinal clara marginal, contrastando com o colorido castanho do abdome.

Genitalia da femea abundantemente pilosa, afilada e sempre além da terminação dos hemelitros. Genitalia do macho recoberta pelos hemelitros.

Os primeiros exemplares (4 machos e 6 femeas) foram capturados em um rancho situado ao norte da cidade de San Felipe, Estado Yaracuy (Venezuela), no lado oriental da Cordilheira da Costa: altura aproximada de 800 metros acima do nivel do mar, com uma temperatura média de 18° C.

Destes exemplares obtivemos uma geração que foi utilisada em experiencias de

INFESTAÇÃO EXPERIMENTAL PELO *SCHIZOTRYPANUM CRUZI*.

Transcrevemos o protocolo das experiencias de infestação experimental:

2/10/938: 4 larvas, 3 ninfas e 1 adultos. Alimentaram-se em cobaio experimentalmente infestado por *S. cruzi* — raça gambá.

Em 12 dias: foram dissecadas 2 larvas que revelaram leishmanias no estomago, a fresco e após coloração.

Em 17 dias: foi dissecada uma ninfa que revelou raras critidias na ampôla retal.

Em 29 dias: foram examinadas uma larva e uma ninfa (punção retal, tecnica de E. Dias); encontraram-se critidias e tripanosomas metaciclicos no conteúdo retal, a fresco e após coloração.

Em 35 dias: foram dissecadas uma ninfa e um adulto que revelaram intensa infestação a fresco (critidias e tripanosomas metaciclicos). Uma larva morreu sem ser examinada.

Em 49 dias: foram dissecados 2 adultos que se mostraram intensamente infestados (tripanosomas metaciclicos). O conteúdo intestinal destes dois exemplares adultos foi inoculado em cobaio, por via intraperitonial. 22 dias depois o animal apresentou flagelados com a morfologia de *S. cruzi* em seu sangue periferico. Um adulto morreu sem ser examinado.

23/11/938: 5 larvas e 2 ninfas. Alimentaram-se em cão naturalmente infestado pelo *S. cruzi*.

Em 20 dias: foram dissecadas 3 larvas que revelaram critidias no conteúdo retal; duas larvas morreram sem ser examinadas.

Em 40 dias: foram dissecadas as duas ninfas, que se mostraram intensamente infestadas: grande quantidade de metaciclicos na ampôla retal, a fresco e após coloração.

Conclusão: *Schizotrypanum cruzi* evolue no tubo digestivo de *Eutriatoma nigromaculata*.

INFESTAÇÃO EM NATUREZA

O primeiro lote infestado em condições naturais pelo *S. cruzi* foi encontrado em um rancho da mesma localidade em Dezembro de 1938. No teto da casa tinham seu ninho varias gambás que não nos foi possivel capturar. Dos exemplares obtidos nesta ocasião, alguns foram conservados no laboratorio; outros foram examinados sob o ponto de vista da infestação natural pelo *S. cruzi*.

O material foi estudado assim:

E. nigromaculata	*Larvas*	*Ninfas*	*Adultos*	*Total*
Capturados	56	32	17	105
Estudados	27	16	12	55
Infestados	8	5	10	23
Não infestados	19	11	2	32
% de infestados	29,62	31,25	83,33	41,81

Dois cobaios foram inoculados intra-peritonialmente em 5/12/938 com o conteúdo retal de alguns destes triatomideos infestados em condições naturais, solubilisado em solução fisiologica. 22 dias depois apresentavam tripanosomas com morfologia de *S. cruzi* no sangue periferico.

Em Fevereiro de 1939 capturamos exemplares num ôco de arvore proximo á casa onde encontramos o lote infestado. A dissecção destes exemplares revelou a presença de globulos vermelhos nucleados no estomago, o que indicava que se haviam alimentado recentemente em ave. Um destes cinco exemplares, revelou tripanosomas metaciclicos na ampôla retal.

BIBLIOGRAFIA

Del Ponte, E.

1921. Contribución al estudio del gen. *Triatoma* Lap. (Segunda parte). Rev. Inst. Bact. Dep. Nac. Hig., B. Aires, **3** (1) : 133-196, láms. 10-15.

1925. Nota adicional sobre el género *Triatoma* Laporte, con la descripción de 3 especies nuevas. Rev. Inst. Bact. Dep. Nac. Hig., B. Aires, **4** (1) : 23-34, figs. 1-2, lám. 1.

1930. Catálogo descriptivo de los géneros *Triatoma* Lap., *Rhodnius* Stal y *Eratyrus* Stal. Rev. Inst. Bact. Dep. Nac. Hig., B. Aires, **5** (8) : 855-937, 25 figs., 13 pls.

Hase, A.

1932. Beobachtungen an venezolanischen Triatoma-Arten, sowie zur allgemeinen Kenntnis der Familie der Triatomidae (Hemipt.-Heteropt.). Beitraege zur experimentellen Parasitologie. 8. Zeits. f. Parasitenk., **4** (4) : 585-652, figs. 1-27, 1 map.

Hussey, R. F.

1922. A bibliographical notice on the reduviid genus *Triatoma* (Hemip.) Psyche, **29** (3) : 109-123.

Iriarte, D. R.

1936. Contribución al Estudio de la Enfermedad de Chagas en Venezuela. Gac. Med. Caracas, **43** (10) : 149-159, figs. 1-9; (11) : 161-170, figs. 10-26; (12) : 183-189, figs. 27-36; (13) : 194-206, figs. 37-44.

1937. Insectos transmissores de la enfermedad de Chagas. *In* Trabajos Cientificos, 213 pp., figs. Caracas.

Lent, H. & Pifano, F.

1939. *Eutriatoma nigromaculata* (Stal, 1872) n. comb., especie venezuelana encontrada infestada pelo *Schizotrypanum cruzi* (Chagas, 1909). Brasil-Medico, **53** (27) : 685-686, 1 fig.

LETHIERRY, L. & SEVERIN, G.

1896. Catalogue général des Hémiptères, vol. 3, 275 pp. — Berlin.

NEIVA, A.

1914. Revisão do genero *Triatoma* Lap. These de livre docencia. Rio de Janeiro, 80 pp.

NEIVA, A. & LENT, H.

1936. Notas e commentarios sobre triatomideos. Lista de especies e sua distribuição geographica. Rev. Entom., **6** (2) : 153-190.

PINTO, C.

1925. Ensaio monographico dos reduvideos hematophagos ou « barbeiros ». These Fac. Med. Rio de Janeiro, 118 pp., 58 figs. — Rio de Janeiro.

1926. Triatomideos da Venezuela, com a descripção de uma nova especie do genero *Eutriatoma* (*Eutriatoma Arthuri* n. sp.). Ann. Fac. Med. S. Paulo, **1** : 3 pp.

1931. Valor do rostro e antenas na caracterisação dos generos de Triatomideos (Hemiptera, Reduvidioidea). Bol. Biol., **19** : 45-136, 70 figs., 1 quadro.

1938. Zoo-Parasitos de interesse medico e veterinario. 376 pp., ests., figs., quadros. — Rio de Janeiro.

RUGE, H. & ROEPER, E.

1937. Der heutige Stand der Chagaskrankheit mit besonderer Beruecksichtigung der Epidemiologie und der Uebertragungsversuche auf Saeugetiere. Ergebn. d. Hyg., Bakt., Immunit. u. Exp. Therap., **19** : 352-463, figs. 1-20.

STAL, C.

1859. Monographie der Gattung *Conorhinus* und Verwandten. Berl. Ent. Zeits., **3** : 99-117, tab. 6, figs. 1-4.

1868. Hemiptera Fabriciana. Svensk. Vet.-Ak. Handl., **8** (2) : 1-148.

1872. Enumeratio Hemipterorum. Svensk. Vet.-Ak. Handl., **10** (4) : 1-159.

WALKER, F.

1873. Catalogue of the specimens of Hemiptera Heteroptera in the collection of the British Museum. Part 8, 220 pp. — London.